Tome 8 N° 2 - 1959

PHYTIATRIE PHYTOPHARMACIE

Revue Trimestrielle
JUIN 1959
PRIX : 500 frs

INTERNATIONAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
30 SEP 1959

PHYTIATRIE - PHYTOPHARMACIE

Revue Scientifique Trimestrielle publiée par la Société Française de Phytiatrie et de Phytopharmacie

COMITÉ DE RÉDACTION

Secrétaire : M. G. VIEL, Directeur du Laboratoire de Phytopharmacie C.N.R.A., route de St-Cyr, Versailles (S.-et-O.).

Membres : MM. A. CHOMETTE, Ingénieur-Chimiste, Docteur-ès-Sciences.
P. DUMAS, Inspecteur de la Protection des Végétaux. Végétaux.
le Professeur R. FABRE, Membre de l'Académie des Sciences, Doyen de la Faculté de Pharmacie.
P. LIMASSET, Professeur de Botanique et de Pathologie Végétale à l'Ecole Nationale d'Agriculture de Montpellier.
H. RENAUD, Ingénieur Agronome, Membre du Comité d'Etudes Phytosanitaires.
R. RÉGNIER, Docteur-ès-Sciences, Directeur de Recherches à l'I.N.R.A.
B. TROUVELOT, Docteur-ès-Sciences, Directeur Central de Recherches de Zoologie Agricole à l'I.N.R.A.
C. VEZIN, Inspecteur Général de l'Agriculture, Président du Comité d'Etudes des Produits Antiparasitaires Agricoles.

SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE PHYTIATRIE ET DE PHYTOPHARMACIE

Siège Social : 57, boulevard Lannes, PARIS (XVI[e])

Tél. TRO. 12-34 C.C.P. Paris 8204-03

Président : M. G. BOURIQUET, Docteur ès-Sciences, Inspecteur Général des Laboratoires de l'Agriculture de la France d'Outre-Mer, Chef du Service de Défense des Cultures de l'ORSTOM.

Secrétaire Général : M. R. RENAUD, Ingénieur Agronome

Tome 8 — N° 2 — 1959

PHYTIATRIE-PHYTOPHARMACIE

Revue française de Médecine et de Pharmacie des Végétaux

SOMMAIRE

M. GUNTZ. — *Epidémiologie du Mildiou de la Pomme de Terre. Eléments de prévision* 55

Dr A. BONNEFOI et P. GRISON. — *Etat actuel et perspectives de la lutte par voie microbiologique contre les Insectes nuisibles aux cultures* 65

J. DESMORAS. — *Activités insecticides des composés organophosphores sur larves de* Ceratitis capitata W. *Application au dosage biologique de l'endothion* 73

B. HURPIN. — *Les maladies du Ver blanc et essai d'utilisation d'une maladie laiteuse indigène* 85

J. PONCHET. — *Essais de produits au laboratoire et en serre sur le développement du* Cercosporella herpotrichoides FRON. *Agent du piétin-verse des céréales* 91

C. GROSCLAUDE et J. SIMONE. — *Essais de quelques fongicides organocupriques dans la lutte contre la Cloque du Pêcher* 103

M. GUNTZ, *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 8, 55-63, 1959.

EPIDÉMIOLOGIE du MILDIOU de la POMME de TERRE ELÉMENTS DE PRÉVISION

par M. GUNTZ

Le développement des épidémies de Mildiou de la pomme de terre est conditionné par l'accroissement progressif de l'inoculum. En matière de prévision, il est possible de se baser sur le fait que le seuil épidémique est généralement atteint après trois cycles successifs de multiplication du pasasite.

INTRODUCTION : NOTIONS DE « DATE 0 » ET DE SEUIL ÉPIDÉMIQUE

Le Mildiou de la Pomme de Terre présente dans certains cas un caractère endémique en relation avec la continuité de culture de la plante hôte; il en est ainsi sous nos climats pour la culture d'arrière-saison ou préculture : la levée survient en août-septembre, alors que la végétation issue des plantations d'avril n'a pas encore disparu. Si le Mildiou a sévi durant l'été et si les conditions climatiques sont alors favorables, une épidémie généralisée de Mildiou est possible en préculture dès l'apparition des premières pousses, et il est nécessaire de traiter à la levée.

Par contre, dans le cas plus courant où la culture de la pomme de terre est discontinue, en particulier lorsqu'un hiver caractérisé précède la plantation, la situation se présente différemment : la réalisation de conditions climatiques favorables à l'éclosion de la maladie ne peut entraîner le développement de l'épidémie qu'à partir d'une époque plus ou moins tardive qu'on peut qualifier de « date 0 » (GRAINGER) (3).

MÜLLER (8) notait déjà en 1931 que les attaques de Mildiou ne prennent jamais d'ampleur en Europe Centrale avant la fin du mois de juin. On admet généralement en France que les premières manifestations de la maladie se produisent rarement avant une époque qui correspond à peu près au stade de la floraison des plantes.

Si la pomme de terre présente au cours de sa croissance des variations quantitatives de sensibilité à la maladie, il n'en reste pas moins qu'elle peut être atteinte par le Mildou à n'importe quelle phase de son développement. Ce n'est donc pas le comportement intrinsèque de l'hôte qui peut suffire à expliquer les faits et les auteurs s'accordent à reconnaître que la « date 0 » est liée à la multiplication de l'inoculum. Pour HIRST (4), la signification biologique de la « date 0 » est le passage de la dissémination locale autour d'un foyer primaire à la dissémination à distance.

On a tenté de déterminer plus ou moins empiriquement cette époque; c'est ainsi qu'en Angleterre on a retenu une date voisine de la fin du mois de juin en se basant sur les observations de plusieurs années (3) (7).

Aux Etats-Unis, HYRE (5) établit statistiquement la « date 0 » comme le moment où la courbe moyenne des pluies cumulées des années à Mildiou s'écarte de la courbe des années sans maladie, soit aux environs du 1er juin.

THRAN (10), en Allemagne, la relie à une somme de température à compter du 1er avril.

MÜLLER (9) estime qu'il faut environ cinq cycles successifs de multiplication de l'inoculum inital pour atteindre l'époque critique.

Pour BOURKE (2), la première manifestation visible de la maladie est précédée par une période de latence s'étendant sur trois à cinq générations du champignon.

La détermination de cette « date 0 » est essentielle pour la prévision des épidémies et une étude sur ce sujet a été entreprise en France sur la variété Bintje.

Il importe encore de préciser la notion de début de l'épidémie et de se référer pour cela à la courbe représentative type de la progression de la maladie en fonction du temps. LARGE (6) a montré que l'évolution du caractère « pourcentage de surface foliaire détruite » suit une loi biologique normale : pour une plante ou un petit groupe de plantes, l'apparition des toutes premières taches est suivie d'une période à extension très lente, après laquelle l'évolution s'accélère rapidement, atteignant souvent un taux journalier de destruction de l'ordre de 10 %, parfois plus.

LARGE (7) situe le seuil de l'épidémie au stade 0,1 % de feuillage détruit, stade qui précède de peu la période de généralisation des symptômes et d'accroissement rapide de la destruction; dès lors l'efficacité des traitements est fort restreinte.

On peut donc admettre que ce stade correspond à peu près à la « date 0 ».

BASES STATISTIQUES DE PRÉVISION

La recherche de bases de prévision approximatives, à caractère statistique, conduit à faire une nette distinction entre les régions

de France directement soumises à l'influence atlantique et les secteurs plus continentaux.

Dans les régions côtières, l'état hygrométrique est généralement élevé et le facteur limitant à l'égard du Mildiou est constitué par la température : tant que le seuil 14° de température moyenne hebdomadaire n'est pas atteint, la maladie ne prend pas d'extension, mais, dès qu'il est dépassé de façon un peu durable, l'épidémie se manifeste.

Par contre, dans l'intérieur du pays, où les températures s'élèvent plus tôt en saison, les attaques du parasite se produisent généralement beaucoup plus tard, sans qu'une relation nette puisse être établie.

La pluviométrie fournit dans ce cas des données beaucoup plus intéressantes : si l'on considère les pluies cumulées par sept jours, il est possible d'établir un seuil critique; à compter de la levée des plantes, celui-ci doit être atteint à trois reprises, des dattes suffisamment éloignées, pour qu'on assiste à la généralisation du Mildiou.

Nous avons quelque peu simplifié pour la commodité de l'exposé, mais ce qui mérite d'être retenu ici c'est la succession de trois périodes favorables, permettant théoriquement trois cycles de multiplication du parasite.

BASES PRÉCISES DE PRÉVISION : CYCLES DE MULTIPLICATION DU PARASITE

Pour éprouver la valeur de cette hypothèse, il était nécessaire de déterminer la durée réelle de chaque cycle et de les situer dans le temps.

Cependant, l'observation permet rarement de percevoir les tout premiers stades de l'évolution de la maladie et donc de suivre les degrés successifs de la multiplication de l'inoculum.

En conséquence, le problème a été envisagé sous un angle théorique; les relevés de température et d'hygrométrie obtenus au niveau des plantes ont été utilisés pour déterminer les périodes critiques et les durées d'incubation sur les bases suivantes :

1° - Des contaminations sont susceptibles de se produire à l'occasion de chaque période de douze heures au moins au cours de laquelle la température ne s'abaisse pas en dessous de 10° et l'humidité relative en dessous de 90 p. cent (Bourke) (1).

2° - La durée d'incubation du Mildiou varie en fonction de la température suivant une loi définie (Thran) (10) : de l'ordre de trois à quatre jours à 18-20°, elle atteint une dizaine de jours à 14° et croît encore pour de plus basses températures.

En d'autres termes, une certaine somme de développement est nécessaire à l'incubation et chaque instant en fournit une fraction variable suivant la température. Il est possible, à partir d'une époque de contamination, de calculer les quantités successives de développement et de les additionner jour après jour, jusqu'au moment où la somme requise est atteinte.

La simple lecture des bandes enregistrées de l'hygromètre et du thermomètre permet ainsi de déterminer, à partir de la levée des plantes, la première période critique C_1 et, en admettant qu'il y ait contamination, la date d'éclosion E_1 de la génération suivante.

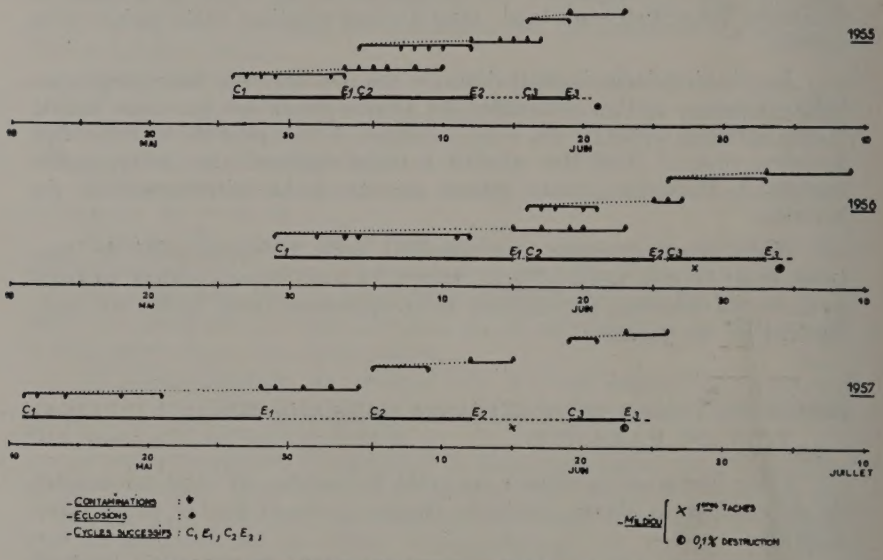


Fig. 1 - *Cycles théoriques de multiplication du parasite et seuil épidémique à Ploudalmézeau (Finistère) en* 1955, 1956, 1957

Ce premier cycle accompli, la prochaine période critique C_2 est susceptible de déclencher un second cycle de multiplication qui s'achèvera par l'éclosion E_2.

Lorsque des conditions climatiques favorables surviendront à partir de ce moment, un troisième cycle pourra se réaliser avec éclosion à la date E_3.

Par souci de simplification, nous avons négligé les périodes critiques intermédiaires intervenant au cours des cycles C_1 E_1, C_2 E_2, C_3 E_3. Le fait essentiel, c'est qu'avant la date E_3 aucune source d'inoculum présente dans la culture n'a pu donner lieu à plus de deux générations successives; des contaminations répétées ont pu se produire entre C_1 et E_1, mais à partir des mêmes sources et on doit considérer qu'il s'agit de la même génération; c'est pourquoi

les graphiques groupent sur un même palier toutes les contaminations théoriques comprises entre C_1 et E_1 et ainsi de suite.

Par ailleurs, l'évolution du Mildiou dans les parcelles d'essai a été notée suivant la méthode habituelle.

La figure 1 résume ces éléments pour trois années successives à Ploudalmézeau (Finistère). On y relève une étroite corrélation entre le stade E_3 déterminé théoriquement et le stade 0,1 % de destruction observé.

Une étude analogue a été réalisée en 1957 en diverses régions : la figure 2 groupe les graphiques relatifs à trois d'entre elles et met en évidence une correspondance entre les stades E_3 et 0,1 %, à l'exception de Gometz-le-Chatel, où il a fallu attendre le stade E_4 pour observer l'éclosion du Mildiou; cependant, dans ce secteur continental, les températures ont atteint entre le second et le troisième cycle de multiplication des valeurs très élevées, néfastes au champignon, ce qui a pu nécessiter une génération supplémentaire.

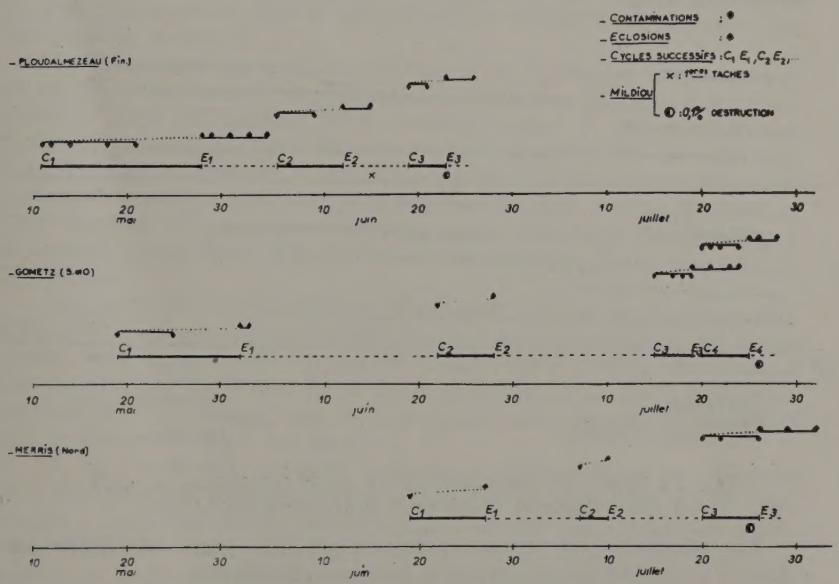


Fig. 2 - *Cycles de multiplication et seuil épidémique en 1957 à Ploudalmézeau (Finistère), Gometz-le-Châtel (Seine-et-Oise), Merris (Nord)*

Quoiqu'il en soit, avant de revenir sur ce problème des températures excessives, il est intéressant de comparer, au moyen des graphiques de la figure 2, le processus de multiplication des régions côtières à celui des zones plus continentales : à une époque donnée, un cycle de multiplication se déroule en général plus lentement sous

le climat atlantique, en relation avec des températures plus basses, mais la succession de trois cycles y est habituellement réalisée plus tôt, du fait de périodes critiques plus fréquentes : les cycles se succèdent presque sans interruption au lieu d'être séparés par des périodes défavorables plus ou moins longues. De plus, les températures élevées jouent assez souvent dans l'intérieur un rôle limitant, ce qui n'a pas lieu dans les zônes côtières.

Une excellente vérification de ce point de vue a été obtenue en 1958 : du fait de conditions météorologiques assez exceptionnelles en début de saison, l'évolution du Mildiou a été quelque peu différente de la normale : des régions continentales soumises à des pluies répétées ont subi l'attaque du parasite plus tôt que les secteurs atlantiques; l'humidité étant presque constamment favorable, les cycles ont pu se succéder de façon quasi-continue et c'est la température, plus élevée dans l'intérieur, qui a conditionné la date d'apparition du Mildiou. La figure 3 met en évidence les phases successives de cette évolution à Ploudalmézeau (Finistère) et Marle-sur-Serre (Aisne).

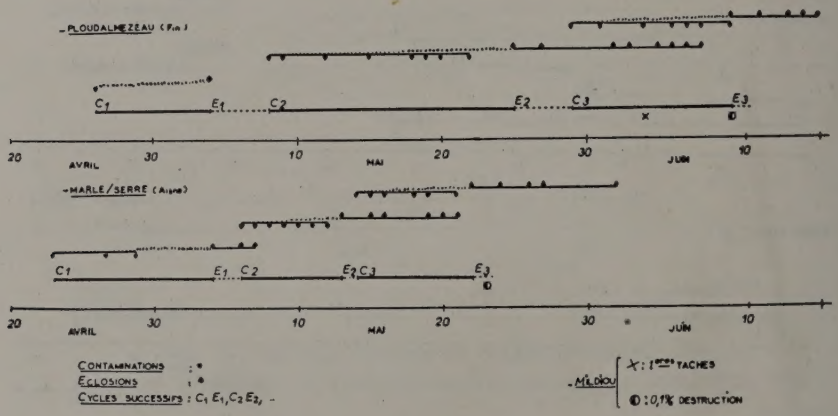


Fig. 3 - *Cycles de multiplication et seuil épidémique en 1958 à Ploudalmézeau (Finistère), Marle-sur-Serre (Aisne)*

La nécessité de trois cycles successifs pour atteindre la « date 0 » semble bien confirmée par ces résultats.

DISCUSSION

Il faut encore remarquer que la date d'observation des premières taches coïncide à peu près avec l'éclosion E_2 du second cycle, mais aucune observation ne correspond à la fin du premier cycle théorique; le problème reste donc entier de savoir si celui-ci existe, s'il est de nature différente (évolution à l'intérieur de la plante ou

au niveau du sol) ou s'il est simplement difficile à détecter du fait de la rareté des points d'attaque.

Quoiqu'il en soit, ce qui apparaît déterminant pour l'apparition de l'épidémie c'est la succession des générations, mais on doit se demander comment interviennent dans la dissémination du parasite des facteurs de la multiplication de l'inoculum tels que la densité de répartition des foyers primaires, la fréquence et l'importance des périodes critiques.

En ce qui concerne les foyers primaires, deux cas extrêmes se sont présentés dans l'Ouest de la France dans le temps de la réalisation de ce travail : en 1956, les foyers étaient très rares, car la saison 1955 avait été défavorable au Mildiou et l'hiver 55-56 très rigoureux; en 1957, par contre, les foyers étaient précoces et nombreux du fait d'un hiver doux faisant suite à une saison favorable au parasite. Or, le graphique de la figure 1 montre qu'à Ploudalmézeau l'épidémie s'est déclarée, dans un cas comme dans l'autre, après trois cycles successifs; la forte densité des foyers primaires n'a pas provoqué en 1957 la généralisation hâtive de la maladie que l'on pouvait craindre.

La fréquence des périodes critiques est également indiquée sur les graphiques. On doit considérer le nombre des périodes comprises entre la levée des plantes et la contamination C_3 qui conditionne l'éclosion immédiatement antérieure au stade 0,1 % de Mildiou. Pour Ploudalmézeau, ce nombre est de 13 en 1955, 12 en 1956 et 8 seulement en 1957. En 1958, il a dépassé 20 dans certaines régions. C'est donc un élément très variable, qu'on peut sans doute relier à la rapidité ultérieure d'évolution de l'épidémie, mais non à son apparition.

Du point de vue biologique, il est bien évident qu'il existe une différence radicale entre l'interférence et la succession de deux cycles : alors que dans un cas le second cycle réalise une simple progression arithmétique de la dose inoculum, à partir des mêmes sources, dans le second cas il y a progression géométrique, selon une raison qui reste à préciser.

A titre indicatif, on peut remarquer qu'une tache de Mildiou de 2 cm^2 produit facilement une récolte de l'ordre de 100.000 sporanges à l'occasion d'une fructification normale. Si seulement 10 % de ceux-ci donnent lieu à des points distincts de contamination, la raison de la progression géométrique d'un cycle au suivant est de 10^4.

Cela signifie que l'achèvement d'un cycle du parasite multiplie l'inoculum par 10^4, alors que l'interférence de trois cycles issus des mêmes sources le multiplie approximativement par 3. Même si ces chiffres ne constituent que des évaluations grossières, il n'existe pas de commune mesure entre eux et ils mettent en évidence le rôle décisif de la succession des cycles dans la multiplication de l'inoculum. La densité des foyers primaires, la fréquence

des périodes critiques n'interviennent que très accessoirement. On peut comparer l'accroissement de l'inoculum à un escalier de très hautes marches disposées en progression à peu près géométrique, elles-mêmes composées de petits paliers successifs. Le début de la troisième marche correspond approximativement au seuil épidémique.

Si l'on considère l'aspect statistique de la dispersion de l'inoculum autour de sa source première de production, on peut définir une zone périphérique où la probabilité de répartition est de une conidie à la première contamination; après trois périodes rapprochées, la probabilité totale est de l'ordre de trois, mais dès qu'un cycle de multiplication est achevé, la première période critique qui suit donne une probabilité supérieure à 10^4. On assiste ainsi à des vagues successives et il semble que la troisième marque le seuil de généralisation de l'épidémie.

Sur le plan pratique, cette répartition se traduit par le fait que la propagation de l'épidémie a lieu en début de saison à courte distance, est localisée par culture, alors qu'il arrive une époque où la dispersion devient quasi-générale avec la production massive de conidies en de multiples endroits. La densité de culture de la pomme de terre dans une région intervient à cet égard.

Un autre aspect pratique du problème concerne l'importance de la date de plantation, car la multiplication locale correspondant aux premiers cycles débute d'autant plus tôt que la levée des plantes est plus précoce; les premiers foyers importants sont généralement observés sur les cultures les plus âgées. Mais cette distinction n'est plus valable quand on atteint le stade de généralisation de l'épidémie.

CONCLUSION

Après ces considérations diverses, il nous faut revenir au problème essentiel qui est celui de la prévision des attaques de Mildiou : la méthode utilisée ici semble fournir des indications assez précises sur la « date 0 » et permet de suivre au fur et à mesure de façon quantitative la multiplication de l'inoculum. Elle pourrait être utilement complétée par une technique de piégeage des sporanges au cours de leur dissémination, permettant de repérer les cycles successifs et la proximité du seuil épidémique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) Bourke P.M.A. — Potato Blight and the weather : a fresh approach. *Irish Meterological Service, Technical. Note* n° 12, 1953.

(2) Bourke P.M.A. — Potato blight and the weather in Ireland in 1953. *Irish Meterological Service, Technical. Note* n° 15, 1953.

(3) Grainger J. — Forecasting outbreaks of potato blight in West Scotland. *Trans. Brit. Mycol.*, 33, 82-91, 1950.

(4) Hirst J.M. — The early history of a potato blight epidemic. *Plant Pathology*, 4, 2, 44-50, 1955.

(5) Hyre R.A. — Progress in forecasting late blight of potato and tomato. *Plant Dis. Rep.*, 38, 4, 245-253, 1954.

(6) Large E.C. — Field trials of copper fungicides for the control of potato blight. I, Foliage protection and yield. *Ann. Appl. Biol.*, 32, 319-329, 1945.

(7) Large E.C. — Potato blight forecasting investigation in England and Wales, 1950-1952. *Plant Pathology*, 2, 1, 1-15, 1953.

(8) Müller K.O. — Uber die Entwicklung von Phytophthora infestans auf anfälligen und widerstandsfähigen Kartoffelsorten. Untersuchungen über die Kartoffelkrautfäule und die Biologie des Erregers II. *Arb. Biol. Reichsanst. für Land-und Forstwirtsch*, 18, 4, 465-505, 1931.

(9) Müller K.O. and Haigh J.C. — Nature of « field resistance » of the potato to *Phytophtora infestans* de Bary. Nature, 171, 781-783, 1953.

(10) Thran P. — Kartoffel-Kratut und Knollenfäule. *Das Wetter in Schleswig-Holstein*, VI, 49 und 51, 1952.

Note reçue le 15 octobre 1958.

Station Centrale de Pathologie Végétale, I.N.R.A., Versailles.

Ce travail a été réalisé avec la participation des Services de la Protection des Végétaux et de la Fédération Nationale des Producteurs de plants de Pommes de Terre.

Dr A. Bonnefoi et P. Grison, *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 8, 65-72. 1959

ÉTAT ACTUEL ET PERSPECTIVES DE LA LUTTE PAR VOIE MICROBIOLOGIQUE CONTRE LES INSECTES NUISIBLES AUX CULTURES

par le Dr. A. BONNEFOI et P. GRISON

Après un rappel des travaux anciens concernant l'emploi des germes pathogènes comme substances pesticides « sélectives » les auteurs examinent les progrès enregistrés ces dernières années dans ce domaine.

Les recherches sur *Bacillus thuringiensis*, bactéries pathogènes pour de nombreuses espèces de Lépidoptères ont abouti à la mise au point de préparations utilisables en agriculture dans des conditions techniques déjà bien définies.

Il en est de même pour des bactéries du groupe de *Bacillus popilliae* pathogènes pour les vers blancs.

Les recherches sur les virus spécifiques de Lépidoptères ont permis de mettre au point les méthodes de multiplication sur les élevages massifs de chenilles et les techniques de séparation et purification des corps d'inclusion des virus.

Toutes les expériences réalisées en France échelles et dans divers milieux culturaux, rapportées ailleurs, ont montré des perspectives encourageantes, dans le domaine de l'utilisation des germes pathogènes pour les insectes nuisibles à l'agriculture.

Le prodigieux essor des insecticides organiques de synthèse justifié par leurs succès éclatants dans la lutte contre certaines espèces jusqu'alors inaccessibles au traitement chimique et par leur commodité d'emploi ainsi que par le perfectionnement des méthodes d'application, ne doit pas faire perdre de vue les dangers présentés par le « traitement total » (Balachowsky 1951) ou par la « rémanence » de leur action (Viel et Raucourt, 1954).

En certaines occasions, et sous certaines formes ,il est donc souhaitable que la lutte chimique, dont les mérites sont évidents, puisse être complétée par la lutte biologique dont la caractéristique essentielle est la *spécificité d'action.*

Or, durant ces dernières années, le phytopharmacien s'oriente davantage vers la recherche de substances hautement « sélectives » vis-à-vis des espèces phytophages.

Les agents pathogènes possèdent, plus ou moins strictement, cette propriété qui a laissé présager des avantages de leur emploi dans la lutte par voie biologique contre les insectes nuisibles (Metalnikov et Chorine, 1930).

Les progrès techniques modernes exigent une spécialisation de plus en plus étroite, ce qui a pour corollaires à la fois l'extension du travail de recherche en équipe et l'accroissement des moyens dont

les équipes doivent disposer pour obtenir des résultats économiquement appréciables.

Nous nous proposons de montrer par quelques exemples empruntés à l'activité de divers Laboratoires de l'Institut Pasteur et de l'Institut National de la Recherche Agronomique, comment les efforts conjugués de spécialistes divers dans les disciplines de la microbiologie, de la cytopathologie et de l'entomologie permettent d'augurer favorablement de l'emploi des germes pathogènes dans la lutte cntre les Insectes nuisibles.

Auparavant, nous tracerons un bref historique de la question *, puis nous relaterons les récentes intentions manifestées par les chercheurs du monde entier en vue d'un rapprochement de leurs idées sur le plan International pour terminer par une ouverture sur des concours plus techniques dans le but de promouvoir la mise en application des nouveaux procédés de lutte par voie microbiologique.

BREF HISTORIQUE

Les *mycoses* ont d'abord retenu l'attention des naturalistes mais, bien que Boissier de Sauvages ait observé les effets de la muscardine sur ver à soie en 1763, il fallut attendre Bassi en 1835 pour démontrer la *nature infectieuse et contagieuse* de la maladie provoquée par *Beauveria bassiana* et Audoin qui en 1839 constatait le caractère épizootique de la muscardine dans la nature sur *Galeruca calmariensis* Fab.

Puis, après une nouvelle éclipse de quarante ans, simultanément l'Américain Le Conte et Louis Pasteur en 1874 émettent l'idée de l'emploi des microorganismes pour combattre des Insectes nuisibles; cette idée fit l'objet en 1879 d'une première application expérimentale par l'Allemand Hagen et surtout des premières études conduites par Metchnikoff en vue d'une application pratique des mycoses.

Metchnikoff avait isolé chez *Anisoplia austriaca* trois maladies dont une causée par *Metarrhizium anisopliae* ou « muscardine verte ». Les spores de ce champignon furent produites industriellement en Russie par Krassilchik en 1884 pour être utilisées d'abord avec succès contre *Cleonus punctiventris*, puis abandonnées par suite d'une soudaine interruption de la culture betteravière.

Quand s'ouvrit l'ère pastorienne, l'attention se porta surtout sur les maladies du Ver à soie et de l'Abeille auxquelles Pasteur lui-même puis beaucoup plus tard Paillot, apportèrent de si belles contributions.

Et au début du XX^e^ siècle, on s'enthousiasma à l'idée d'utiliser les *maladies bactériennes*. Malheureusement les résultats contradictoires obtenus par d'Hérelle et par Métalnikov se traduisirent vers 1930 par un septicisme trop vite généralisé.

(*) Un historique très détaillé a été présenté par E. Steinhaus (1956).

Cette déception dura jusqu'à la grande réussite, à partir de 1940, de la lutte contre le Hanneton japonais avec *Bacillus popilliae* isolé et multiplé sur larves par DUTKY (1940).

STEINHAUS à l'Université de Berkeley, en Californie, eut le très grand mérite de remettre en faveur la lutte microbiologique en tenant compte de l'avertissement donné par PAILLOT en 1933 qui écrivait au sujet des essais de METALNIKOV : « on a voulu se servir prématurément d'une arme que l'on ne connaissait pas ». C'est ainsi que se développèrent aux U.S.A., et au Canada, des laboratoires de recherches fondamentales sur les maladies des Insectes.

L'étude des virus y occupa bientôt une place importante en raison des grandes potentialités qui furent mises en évidence notamment par BALCH et BIRD qui, en 1944, introduisirent d'Europe la souche de polyèdrie pour lutter contre la Tenthrède européenne de l'Epicea dans le New Brunswick avec un plein succès; puis par STEINHAUS et THOMPSON en 1949 contre la Pièride de la Luzerne, ils dispersèrent par avion des suspensions de polyèdres avec le même succès que les entomologistes canadiens.

En France, l'Institut Pasteur décidait en 1950 de reprendre les recherches sur *Bacillus thuringiensis* et l'I.N.R.A. créait successivement en 1947, le Laboratoire de Cytopathologie des Insectes à Alès confié à Vago, puis en 1955 le Laboratoire de Lutte biologique de la Minière.

Nous considèrerons maintenant l'état actuel des problèmes posés par les conditions d'utilisation des bactéries et des viroses, maladies qui sont plus spécialement étudiées dans les Laboratoires français.

En nous limitant à des cas peu nombreux tant en ce qui concerne les germes pathogènes qu'en concerne les Insectes, nous avons pu éviter une dispersion de nos efforts, aborder davantage en profondeur les quelques sujets d'étude retenus ainsi dans les meilleurs délais des résultats suffisamment convaincants pour donner confiance aux chercheurs, et garantir l'efficacité de nos méthodes auprès des techniciens.

CONNAISSANCES FONDAMENTALES

Si l'on considère d'abord le cas des bactéries pathogènes pour les Insectes, qui donnent lieu actuellement aux mises au point les plus poussées en vue des applications pratiques, nous pourrions développer une somme importante de recherches de base effectuées depuis une quinzaine d'années et grâce auxquelles certains insuccès de METALNIKOV peuvent être expliqués.

En 1958, deux colloques internationaux l'un à Prague, l'autre à Paris ont permis de faire le point des connaissances acquises ces dernières années.

En premier lieu ces colloques ont recommandé de réduire la confusion qui règne actuellement dans la nomenclature et l'étude systématique des bactéries entomophages. Puis, d'orienter les recherches écologiques vers l'étude des manifestations épizootiologiques, la sélection et l'isolement des germes et des souches afin de les soumettre à des tests mettant en évidence l'intensité et les limites de leur virulence ainsi que leur mode d'action.

Nous ne discuterons pas du statut systématique du germe isolé chez *Ephestia kuehniella* par BERLINER en 1912 et classé dans le grand groupe des *B. Cereus* sous le nom de *Bacillus thuringiensis* BERLINER. Il convient, à son sujet, de rappeler brièvement deux notions fondamentales parmi beaucoup d'autres.

La première notion se rapporte à la constatation des limites de la polyvalence d'action pathogène du germe dans un groupe donné d'Insectes (ici : les Lépidoptères) ; elle a pour corollaire la différence de virulence à l'égard d'un Insecte donné, des diverses « souches » d'une même espèce bactérienne.

La deuxième notion se rapporte à la constitution physico-chimique et bactériologique des germes et au mode d'action qui en résulte.

Au moment de la sporulation, le bacille produit un cristal de forme rhomboédrique et de nature protéinique qui n'est dissout que dans les solutions alcalines de pH élevé (travaux de HANNAY et FITZ-JAMES, 1954-1955). Dans de nombreux cas la toxicité est due à la présence de ce cristal mais seulement après sa dissolution, dans le tube digestif de l'Insecte (travaux de ANGUS, 1956).

La différence des pH du tube digestif est l'une des causes de la spécificité d'action de la bactérie chez les Insectes. Une intoxication brutale se manifeste, après ingestion du germe en sporulation, chez les espèces dont le pH est supérieur à 9.

Par contre chez d'autres espèces, comme chez beaucoup de Noctuelles ou chez les Tenthrèdes, à pH du tube digestif inférieur à 9, l'intoxication peut être due à la production d'une enzyme par le germe bactérien ou bien encore l'infection peut déclencher une septicémie dans des délais très variables.

***

Dans le cas des virus, qui provoquent les « maladies à polyèdres » découvertes il y a un siècle, en 1856, par MAESTRI et CORNALIA chez le Ver à soie, les difficultés rencontrées en vue de leurs applications pratiques sont beaucoup plus grandes et sont essentiellement de deux ordres.

D'abord les germes ne se multiplient que sur organismes vivants ; ensuite, la recherche indispensable des agents étiologiques est très délicate et ne peut être faite que par un spécialiste de la

cytopathologie se consacrant à la description des processus histopathologiques et à la caractérisation des symptômes de l'infection et de la pathogénéité.

Parallèlement les biochimistes ont entrepris, surtout depuis 1950, des études approfondies sur la structure et les propriétés physico-chimiques à la fois des éléments viraux et des corps d'inclusion qui renferment ceux-ci (Wellington 1954).

Bergold (1958) a rassemblé l'ensemble de nos connaissances dans les divers domaines de la virologie des Insectes y compris l'utilisation pratique des virus qui pose de nombreux problèmes non encore résolus et parmi lesquels nous citerons : la spécificité, la latence et les facteurs d'activation, auxquels Vago consacre, en France, une grande part de son activité.

MULTIPLICATION DES GERMES ET DIFFUSION DES PRÉPARATIONS MICROBIOLOGIQUES

Il n'est pas opportun de reproduire ici la description des méthodes de cultures bactériennes connues dans leurs principes généraux et publiées ailleurs en ce qui concerne *Bacillus thuringiensis* (Lemoigne et al. 1956).

A partir de l'installation de production-pilote en fermentateurs semi-industriels de 150 litres telle qu'elle existe à l'Institut Pasteur, on peut envisager la production de masse sur milieux de culture artificiels; cette production de masse ne présente pas de difficultés insurmontables pour des industries du type des producteurs d'antibiotiques ou bien, après quelques mises au point d'adaptation, pour des industries de fermentation.

Le cas des virus est considérablement plus complexe et moins rentable puisque la culture sur milieux artificiels n'est pas possible et qu'il faut recourir à l'élevage de masse de l'Insecte-hôte pour procéder à l'infection des animaux vivants.

Cependant il n'est pas exclu que, dans un avenir plus ou moins proche, la pratique des cultures de tissus d'insectes offre une solution de multiplication beaucoup plus rationnelle des virus, même à l'échelon industriel comme cela a lieu pour les produits biologiques utilisés en médecine humaine et vétérinaire.

La culture de tissus d'insectes capables d'assurer la prolifération des virus a été mise au point simultanément depuis ces deux dernières années aux U.S.A., en U.R.S.S. et par Vago en France (1958, 1959).

Nous assistons donc à l'éclosion de méthodes qui seront d'autant plus prometteuses que la recherche fondamentale qui les a enregistrées disposera des moyens nécessaires à leur élargissement.

⁂

Enfin, il convient d'envisager la *distribution* des produits biologiques obtenus à l'échelon industriel qui suppose la conviction de deux partenaires.

D'abord, celle du manufacturier qui aura pour tâche d'offrir pour la pratique agricole, toutes garanties :

— d'efficacité,
— d'homogénéité de titre et de dispersion,
— de conservation,
— de normes d'utilisation et de commodité d'emploi.

En ce qui concerne les bactéries, et poursuivant jusqu'à ce dernier stade les mises au point commencées par l'Institut Pasteur en matière de multiplication, le Laboratoire de La Minière a apporté une réponse à ces différentes questions exposées ailleurs par Burgerjon et Martouret.

Le deuxième partenaire est l'agriculteur.

Comment celui-ci acceptera-t-il une préparation qui, par sa nature même, est hautement sélective ?

La réponse à cette question est apportée à la fois par la méthode d'application de la lutte biologique et par les avantages de la sélectivité.

Le premier point concerne la *dispersion* des microorganismes (ou des parasites entomophages) que nous n'envisageons pas sans une certaine généralisation. C'est-à-dire que, selon nous, les organismes utiles multipliés en masse doivent être dispersés dans l'ensemble d'une zone culturale et, à cet égard la lutte biologique en milieu forestier est parfaitement justifiable et rentable (Grison-Maury-Vago, 1959).

En agriculture intensive cette dispersion pourrait être assurée par des techniciens spécialistes et peut-être même par des organisations professionnelles, sans exclure l'utilisation directe des préparations à base de micoorganismes par l'agriculteur lui-même.

Les préparations bactériennes notamment, dont les effets toxémiques et neurotropes s'apparentent à ceux des insecticides chimiques ne manqueront pas d'intéresser l'agriculteur lorsqu'il en aura considéré les avantages.

Ces avantages ont été décrits par Lecomte et Martouret en ce qui concerne l'inocuité pour les Abeilles, et par Biliotti (1956) par rapport au respect des Hyménoptères entomophages.

Mais celui qui présente le plus d'attraits pour le naturaliste et qui attire de plus en plus l'attention de l'agronome, c'est le respect des équilibres biologiques.

En recourant à la lutte biologique, nous n'avons pas l'ambition de résoudre tous les problèmes phytosanitaires et, dans les cas

encore très restreints où elle s'applique présentement, elle vise à remplacer l'équilibre actuel favorable à l'Insecte phytophage par un nouvel équilibre plus favorable à l'économie agricole; mais dans aucun cas, elle ne devrait provoquer ces perturbations de faune dont on a parfois rendu responsable la lutte chimique.

CONCLUSION

La pratique de l'utilisation des germes pathogènes contre les Insectes ravageurs des cultures reste basée sur :

1°) Le développement des études taxonomiques pour mieux connaître les germes qu'on utilise et éviter des confusions fâcheuses dans leur emploi.

2°) L'accentuation des recherches fondamentales sur les modes d'action des germes, sur les processus pathologiques et sur les conditions écologiques de l'infection et de la contamination.

Ces deux considérations sont d'ailleurs identiques pour la pratique judicieuse de la lutte biologique par emploi des Insectes entomophages, dont le mérite n'a jamais été contesté.

En troisième lieu, la pratique de l'utilisation des germes pathogènes doit s'appuyer sur l'industrialisation des procédés de multiplication des microorganismes adaptée aux besoins de l'agriculture et de la sylviculture.

Dès à présent, nous disposons de techniques et de moyens favorables au développement et à la vulgarisation de préparations à base de germes pathogènes qui s'ajoutent, avec beaucoup moins de danger pour l'homme et les animaux supérieurs et sans les concurrencer ni les remplacer, aux méthodes chimiques utilisées pour la protection des cultures.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Angus T.A. — Association of toxicity with protein cristalline inclusions of *Bacillus sotto* Ishiwata, *Can. J. Microb.* 2, 122-131, 1956.

Balch R.E. et Bird F.T. — A disease of the European Spruce Sawfly *Gilpinia hercyniae* HTG and its place in natural control. *Sci. Agric.* 25, 65-80, 1944.

Bergold G.H. — Viruses of insects. *Handbuch der Virusforschung* 4 (3 Ergänzungsband), 60-142, 1958.

Biliotti E. — Entomophages et maladies des insectes. *Entomophaga* I, 45-53, 1956.

Burgerjon A. — Titrage biologique et définition d'une unité biologique pour les préparations de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Entomophaga* 4, 201-207, 1959.

Dutky S.R. — Two spore-forming bacteria causing milky diseases of Japanese Beetle larvae. *Journ. Agric. Res.* 61, 57-68, 1940.

Grison P., Maury R. et Vago C. — Traitement d'un massif forestier avec une préparation à base de *Smithiavirus* contre *Thaumetopoea pityocampa.*

Hannay C.L. et Fitz-James P.C. — The protein crystals of *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Canad. J. Microbiology* I, 694-710, 1955.

Krassiltchik I.M. — La production industrielle des parasites végétaux pour la destruction des insectes nuisibles. *Bull. Sci. France* 19, 461-472, 1888.

Lecomte J. et Martouret D. — Non toxicité pour les abeilles des traitements à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner souche *Anduze*, bactérie pathogène pour les larves de Lépidoptères. *Annales de l'Abeille*, 2, 171-175, 1959.

Lemoigne M. et al. — Essais d'utilisation de *Bacillus thuringiensis* Berliner contre *Pieris brassicae* L. *Entomophaga* I, 19-34, 1956.

Martouret D. — Applications diverses et normes d'utilisation de *Bacillus thuriengiensis* souche *Anduze*. Communication au 2me Colloque sur Pathologie des Insectes. *Entomophaga* 4, 211-220, 1959.

Metalnikov S. et Chorine V. — Utilisation des microbes dans la lutte contre les insectes nuisibles. *Bull. Soc. Encour. pour Indust.* Juillet-septembre, 538-550, 1950.

Paillot A. — L'infection chez les insectes. 535 p. Pattissier, Trevoux, 1933.

Steinhaus E.A. — Microbial Control, the emergence of an idea. A brief history of insect pathology through the 19th Century. *Hilgardia*, 26, 107-159, 1956.

Steinhaus E.A. et Thompson C.G. — Preliminary field tests using a polyhedrosis virus to control the alfalfa caterpillar. *J. Econ. Entomol.* 42, 301-305, 1949.

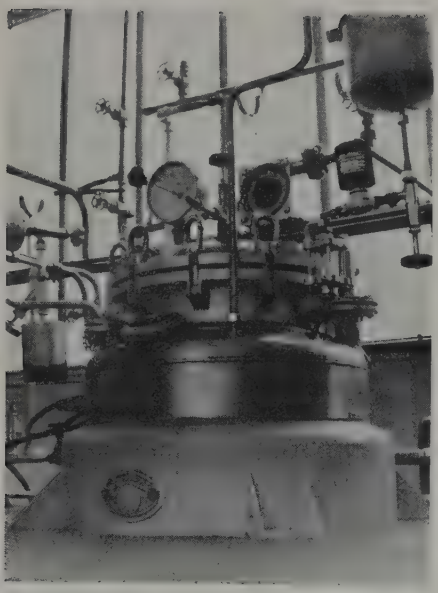
Vago C. — Cultures de tissus prolongées à observation directe. *Mikroskopie.* 13, 520, 1958.

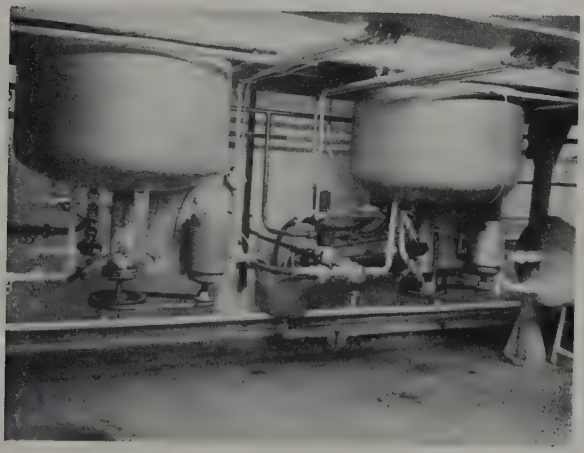
Vago C. — Recherches sur la culture de tissus en virologie des insectes. *Entomophaga.* IV, 1, 23-26, 1959.

Wellington E.F. — The amino-acid composition of some insect viruses and their characteristic inclusion-body proteins. *Biochem. J.* 57, 334-338, 1954.

Institut Pasteur, Paris, et Laboratoire de Lutte Biologique, La Minière par Versailles (Seine-et-Oise).

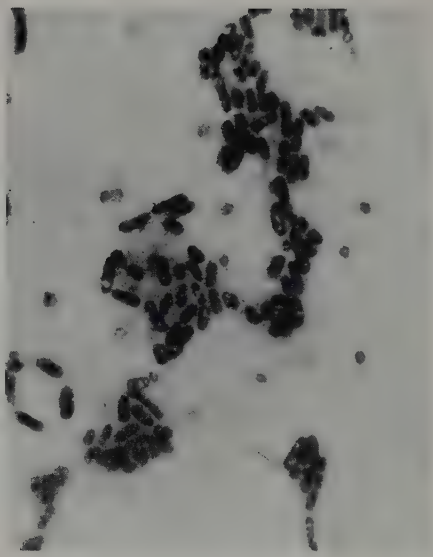
Note reçue le 17 décembre 1958.





Parties supérieures et inférieures des cuves de 150 litres pour la production semi-industrielle des poudres primaires à base de spores et de cristaux-toxines de Bacillus thuringiensis (*Institut Pasteur*)

clichés Institut Pasteur



Bacillus thuringiensis *au moment de la sporulation et de la libération des cristaux-toxines de profil losangique (grossissement 550)*

Traitement généralisé d'un massif forestier au Mont Ventoux avec une préparation à base de polyèdres de Smithiavirus *contre la Chenille processionnaire du Pin*

clichés Laboratoire La Minière

J. Desmoras, *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 8, 73-83, 1959

ACTIVITÉS INSECTICIDES DE COMPOSÉS ORGANOPHOSPHORES SUR LES LARVES DE CERATITIS CAPITATA W. APPLICATION AU DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'ENDOTHION

par J. DESMORAS

L'activité insecticide de certains composés organophosphorés sur la larve de la Mouche méditerranéenne des fruits est très élevée.

L'endothion (7.175 R.P.) est un des composés les plus actifs et cette propriété nous a permis de mettre au point une technique de dosage biologique du 7.175 R.P. résiduel dans les végétaux.

Bien que cette technique n'ait pas été appliquée à d'autres esters phosphoriques, il est certain que moyennant quelques variantes, cette méthode pourrait convenir au dosage de nombreux insecticides organophosphorés résiduels dans les végétaux : parathion, malathion, diazinon, dipterex, phosphamidon, par exemple.

INTRODUCTION

La mise au point par M. Féron (1) d'une méthode d'élevage simple et commode de Ceratitis capitata permet d'utiliser couramment cet insecte au laboratoire.

A la suite des travaux de G. Viel et M. Chancogne (2) sur les adultes de Cératites et de la mise en évidence des propriété larvicides de l'endothion sur la Mouche de l'asperge par R. Coutin et J. Hennequin (3), nous avons étudié les propriétés insecticides d'un certain nombre d'esters phosphoriques sur la larve de la Mouche des fruits.

Quelques composés sont très actifs, parmi eux, l'endothion.

Cette propriété nous a permis de mettre au point une technique de dosage biologique du 7.175 R.P. résiduel dans les végétaux, aussi bien dans le feuillage que dans les fruits. La mise en place de l'essai est très simple et ne demande pas de manipulations compliquées, ce qui est souvent le cas avec les dosages biologiques; les résultats sont obtenus vingt-quatre heures après.

L'endothion est le seul insecticide que nous ayons dosé dans les végétaux mais il est certain que la technique décrite serait applicable à d'autres insecticides organophosphorés : parathion, malathion, diazinon pour n'en citer que quelques uns.

ACTION D'INSECTICIDES ORGANOPHOSPHORÉS SUR LES LARVES DE CERATITIS CAPITATA W.

1° - PRINCIPE DES ESSAIS

L'insecticide à étudier est incorporé à différentes concentrations à un milieu convenant à l'élevage de larves de Cératites. Les diverses préparations sont réparties dans les récipients adéquats, les larves sont ensuite ajoutées. Les relevés de mortalité sont faits vingt-quatre heures après la contamination.

2° - MODE OPÉRATOIRE

a) *Elevage de Ceratitis capitata*

La méthode d'élevage est décrite par M. FÉRON (1).

Les adultes sont stabulés dans des cages bien aérées dans une enceinte à 26° et à 75 % d'humidité relative. La nourriture est constituée par des rondelles fraîches de banane. Les œufs sont pondus dans des boîtes de matière plastique perforée, sur un tissu humide, et sont recueillis chaque jour. Le développement larvaire s'opère dans un milieu synthétique à base de poudre de carotte et la pupaison dans du sable de Fontainebleau.

b) *Larves pour l'essai*

Un pondoir prêt à l'emploi est mis à dix-sept heures dans une cage contenant des mouches. Le lendemain à huit heures les œufs pondus dans la nuit sont recueillis et mis dans un petit poudrier de 20 ml contenant 3 à 4 g de milieu carotte (on met de 1.000 à 1.500 œufs). Le poudrier est conservé quarante-huit heures à 26-27° : cet intervalle est suffisant pour permettre aux œufs d'éclore et aux jeunes larves de s'alimenter dix-huit à trente heures sur le milieu nutritif complet; elles sont alors séparées des œufs non éclos et prêtes pour l'essai.

c) *Dilutions*

Le milieu carotte normal est réparti dans des tubes à essai (18 × 100) à raison de 9,5 g par tube; on ajoute 0,5 ml de solution (ou d'émulsion) dans l'eau du produit à étudier à une concentration donnée, de façon à obtenir les concentrations finales de 1, 03, 0,1, 0,03 mg/kg de l'insecticide dans le milieu à étudier.

d) *Contamination*

Les diverses dilutions sont réparties dans des boîtes de Pétri 9 cm de diamètre à raison de 1 g environ par boîte (trois boîtes au moins par concentration et par produit, avec au moins vingt larves par boîte).

Ces larves sont triées de la façon suivante :

Le milieu contenant les larves est dilué dans le poudrier avec de l'eau bidistillée, puis la suspension est transvasée dans une boîte de Pétri de 20 cm de diamètre et diluée avec 30 ml d'eau environ. Il est alors facile de distinguer les larves par transparence; celles-ci sont pipetées et posées sur papier filtre sombre.

Les larves sont alors réparties avec une aiguille lancéolée dans les diverses boîtes.

Pour un opérateur entraîné, le tri de 500 larves demande une heure environ. Les boîtes contaminées sont conservées à 26° pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures.

e) *Relevés de mortalité*

Les relevés de mortalité se font généralement vingt-quatre heures après la mise en route de l'essai; pour un essai plus sensible. il est possible d'atteindre quarante-huit heures.

Le relevé de mortalité est difficile à faire par discrimination directe des larves vivantes ou mortes; au contraire il est très facile à exécuter si l'on met à profit le phototropisme négatif de ces larves : il suffit de placer la colonie à examiner sous un faisceau lumineux et de compter les larves qui restent dans la lumière et celles qui s'en éloignent pour se réfugier à l'obscurité. Pour cela, on ajoute dans la boîte à examiner 10 ml d'eau à 25°. Le tout est bien homogénéisé; les larves, bien visibles, sont pipetées en entraînant le minimum de liquide puis déposées sur un carré de voile de coton de 2 cm² environ placé sur un milieu nutritif sombre (un mélange à base de feuille convient très bien). Les larves sont alors éclairées fortement et celles qui n'ont pas pénétré au travers du voile dans le milieu au bout de deux minutes sont considérées comme mortes.

3° - RÉSULTATS

Tous les essais suivants ont été faits avec des larves âgées de deux jours environ; ce sont, comme nous le verrons plus loin, celles qui conviennent le mieux pour les déterminations des DL_{50}.

Les résultats obtenus avec un certain nombre d'esters phosphoriques sont résumés dans le tableau I. Nous indiquons les pourcentages de mortalité corrigés vingt-quatre heures après la contamination des milieux en fonction des concentrations en matière active; soixante larves au moins sont utilisées par concentration.

Nous avons autant que possible pris des produits purs mais lorsque cela n'était pas possible, nous avons utilisé les spécialités commerciales en tenant compte des concentrations en matière active indiquées par le fabricant.

TABLEAU I

Activité larvicide sur Ceratitis capitata W. *de divers insecticides organosphosphorés*
Pourcentages de mortalité corrigés

Produit		Parathion	Malathion	Diazinon * Basudine	Dipterex *	Déméton-méthyl * Métasystémox	Phosphamidon * Ciba 570	Endothion
Concentration ...	0,03	60	20	25	5	0	0	55
en ...	0,1	95	90	80	40	0	0	95
matière active ...	0,3	100	95	95	90	15	30	100
mg/kg ...	1	100	100	100	100	100	100	100

* Produits ayant été utilisés sous forme de spécialité commerciale.

Les produits les plus actifs sont dans l'ordre :
parathion, endothion, malathion, diazinon, dipterex, phosphamidon et métasystox.

L'endothion se révèle donc très actif sur les larves de Cératites.

DOSAGE BIOLOGIQUE DU 7.175 R.P. RÉSIDUEL DANS LES VÉGÉTAUX

1° - PRINCIPE DU DOSAGE

L'homogénéisat de plante contenant le 7.175 R.P. à doser est mélangé à un milieu convenant à l'élevage des larves de Cératites. Un milieu comparable est préparé à partir de plantes non traitées; cette dernière préparation sert à diluer le broyat contenant les résidus toxiques et à préparer une gamme de référence en ajoutant des quantités connues de 7.175 R.P.

Les différentes dilutions sont réparties dans des récipients adéquats, les larves sont ensuite ajoutées. Les relevés de mortalité se font vingt-quatre heures ou quarante-huit heures après la contamination.

Par comparaison avec la gamme de référence, il est facile de déduire, d'après les mortalités observées, la teneur en 7.175 R.P. des plantes traitées.

2° - MATÉRIEL - MODE OPÉRATOIRE

Le 7.175 R.P. étant un insecticide endothérapique ,il est nécessaire de considérer pour le dosage l'ensemble d'un végétal et non la partie superficielle comme pour un insecticide de contact : parathion ou malathion.

Le végétal à étudier est donc broyé et homogénéisé et c'est sur ce matériel qu'est fait le dosage.

a) *Mise en place de l'essai*

Dans la première partie de cette note ont été considérés l'élevage de Cératites, la préparation des larves pour l'essai et la contamination des divers milieux; pour le dosage proprement dit les diverses manipulations sont identiques. Les différences portent sur la préparation des milieux pour le dosage.

b) *Préparation des milieux pour l'essai*

Nous devons considérer deux cas :

— Détermination des résidus dans des végétaux ne se prêtant pas au développement des larves (feuilles, certains fruits).
— Détermination dans des fruits qui permettent l'élevage des larves.

1) **Végétaux impropres à l'élevage des larves**

Pour permettre le développement normal des larves, on doit ajouter une proportion variable de milieu nutritif.

Feuillage - Epiderme des fruits

Le feuillage est divisé et homogénéisé en présence d'eau à l'aide d'un broyeur à couteau plongeant (le broyage dure trois minutes à 17.000 t/min.).

On mélange à parties égales le broyat et le milieu nutritif; l'ensemble est homogénéisé (quinze minutes avec un agitateur Prolabo - 400 t/min.) et est dès lors prêt à recevoir les larves.

Le feuillage traité au 7.175 R.P. et le feuillage témoin (plante non traitée) sont préparés de façon identique.

Fruits

L'espèce végétale dans laquelle doit être faite la détermination des résidus doit être préalablement essayée afin de préciser si elle convient à l'élevage des larves de Cératites.

Parmi les fruits étudiés jusqu'à ce jour, la pomme et le citron conviennent mal au développement larvaire; on leur incorpore donc du milieu nutritif.

La proportion utilisée pour le feuillage convient à tous les essais, mais pour augmenter la sensiblité du dosage, il est possible

de réduire les quantités rajoutées, celles-ci sont déterminées dans l'essai préalable : pour la pomme et le citron par exemple on ajoute une partie de milieu nutritif pour deux parties de broyat.

2) **Fruits convenant au développement des larves**

La poire, la banane, l'orange conviennent bien à l'élevage des larves. Dans ce cas le broyat est utilisé directement sans incorporation de milieu nutritif. Les dilutions se font avec des broyats de fruits non traités de la même espèce et de la même variété.

Remarque

Pour le broyage, les quantités d'eau à ajouter sont variables suivant le matériel végétal et le broyeur utilisé; il est évidemment intéressant d'en ajouter le minimum afin d'avoir une sensibilité maximum.

Dans notre cas avec un broyeur-mixer de « Verre et Technique », type B, il faut :

Feuillage	1 partie feuille,	1 partie eau
Orange Pomme Citron	4 parties fruit,	1 partie eau
Poire Banane	pas d'eau	

c) *Dilutions - Contamination des milieux*

Gamme de référence

Le mélange convenable obtenu à partir du matériel végétal non traité est réparti dans des tubes à essai (18×100) à raison de 9,5 g par tube; on ajoute 0,5 ml de solution aqueuse de 7.175 R.P. de façon à avoir les concentrations de : 0,2 - 0,1 - 0,05 - 0,025 mg/kg en 7.175 R.P. (ou encore de 0,16 - 0,08 - 0,04 - 0,02 - 0,01 mg/kg); dans ces conditions trois dilutions au moins donnent des pourcentages de mortalité compris entre 0 et 100 %.

Mélange inconnu

La teneur en 7.175 R.P. est déterminée grossièrement dans un essai préalable en diluant le mélange initial dix fois, cent fois, mille fois, avec du milieu témoin.

Il est ainsi possible de choisir ensuite une gamme de dilutions convenables. Pour l'essai précis, il faut au moins quatre dilutions en progression géométrique de raison deux.

3° - RÉSULTATS - EXAMEN DES RÉSULTATS

a) *Age des larves*

La sensibilité des larves en fonction de leur âge a été déterminée en suivant leur mortalité dans du milieu carotte contenant du 7.175 R.P. à différentes concentrations.

Les résultats sont résumés dans le tableau II.

Sensiblité des larves en fonction de leur âge
Pourcentages de mortalité

Age des larves (j.)	1		2		3		4	
Intervalle entre contamination et relevé Concentratien en 7.175 R.P. (mg/kg)	24 h.	48 h.	24 h.	48 h.	24 h.	48 h.	24 h.	48 h.
0	10 %	25 %	0 %	10 %	5 %	5 %	0 %	0 %
0,02	15	30	40	50	10	25	20	20
0,04	25	55	80	85	25	70	60	75
0,08	95	100	90	95	35	95	75	80
0,16	100	100	100	100	100	100	95	100

Les larves d'un jour sont les plus sensibles, mais elles sont très fragiles et elles craignent beaucoup le manque d'humidité. Les larves de deux jours sont sensibles au 7.175 R.P.; elles ont déjà grossi, ce qui facilite les diverses manipulations.

b) *Composition du milieu*

Milieu carotte

Le milieu utilisé pour l'élevage a la composition suivante :

Poudre de carotte sèche (a)	100 g
Levure de bière sèche	20 g
Solution d'acide benzoïque dans l'eau à 0,2 %	400 ml
Acide chlorhydrique N	10 ml

La suppression d'un ou plusieurs constituants du mélange met en évidence la nécessité absolue d'avoir :

— de la poudre de carotte;

— de l'acide benzoïque;

— un pH voisin de 5.

(a) Fournisseur : M. Giraud *aîné* à Sarrians (Vaucluse).

Pour un essai de courte durée (quarante-huit heures au maximum), il est possible de supprimer la levure de bière. Dans un milieu sans levure, la sensibilité des larves au 7.175 R.P. est augmentée.

Les pourcentages de mortalité observés sont résumés dans le tableau II : ce sont les mortalités après vingt-quatre heures.

TABLEAU III

Sensiblité des larves suivant la présence ou l'absence de levure
Pourcentages de mortalité

Concentration en 7.175 R.P. mg/kg	Milieu carotte		Broyat de fève + carotte	
	avec levure	sans levure	avec levure	sans levure
0	0	0	10	10
0,025	0	10	25	40
0,05	30	70	41	75
0,1	60	95	80	95
0,2	95	100	95	100

Pour tous les dosages et la préparation des milieux, nous utilisons donc un mélange carotte, solution d'acide benzoïque et acide chlorhydrique.

c) *Exemple de dosage - Précision*

Afin d'avoir le maximum de précision, on choisit une gamme de concentrations qui donne au moins trois pourcentages de mortalité compris entre 0 et 100 %. Ceci permet de construire les droites de régression pour les broyats inconnus et de les comparer à la droite de régression obtenue avec la gamme de référence : c'est la méthode des essais simultanés (4).

A l'aide de la méthode des probits (5) on trace les droites de régression qui doivent être parallèles. On détermine ensuite les cœfficients de potentialité relative pour les broyats à doser par rapport à la gamme de référence; on en déduit la teneur en 7.175 R.P. des mélanges à doser.

A titre d'exemple, sont indiqués ci-dessous les résultats obtenus au cours d'un dosage.

A du feuillage de fève on a ajouté, avant tout traitement, de l'endothion de façon à avoir la concentration théorique de 0,5 mg/kg en insecticide; le broyat une fois préparé jouera le rôle de matériel à doser.

Les pourcentages de mortalité obtenus vingt-quatre heures après la mise en place de l'essai sont résumés dans le tableau IV.

PHYTIATRIE - PHYTOPHARMACIE

Tome 7 — 1958

TABLE DES MATIERES

Cl. Anselme. — *Etude comparative de différents produits utilisés pour la désinfection des semences de lin* 3

Cl. Anselme et M. Bourgeois. — *Carence et maladie cryptogamique sur* Linum usitatissimum 117

P. Anglade. — *Essais insecticides de plein champ contre les larves de Taupins* (Agriotes sp) *nuisibles au Maïs dans le Sud-Ouest* 39

J. Bulit et J. Louvet. — *Fongicides appliqués au pal ou à l'explosif en cultures maraîchère et fruitière* 15

J. Coulon. — *Efficacités comparées de quelques produits acaricides* 127

R. Coutin et J. Hennequin. — *Contributions préliminaires à l'étude de l'action de l'endothion sur les larves de la Mouche de l'Asperge* (Platyparea poeciloptera Schr) 145

H. Darpoux et M. Arnoux. — *Actions du pétrole et de l'arséniate de plomb sur la Tavelure et la Septoriose du Poirier* 47

H. Darpoux, M^me^ C. Catelot et M^lle^ Gorse. — *Etude préliminaire sur l'action systémique et endothérapique du sel de manganèse de la 2 pyridine thione 1 oxyde* 107

E. Knusli. — *Nouvelles recherches sur les désherbants à base de triazine* 81

J. Lhoste, A. Casanova et P. Stouff. — *Les possibilités d'emploi du MCPP comme désherbant sélectif des céréales* .. 151

J. Ponchet. — *La prévision des épidémies de piétin-verse :* Cercosporella herpotrichoïdes Fron 133

J. Prat, H. André et A. Colas. — *Note sur le dosage du mercure dans les formules phytopharmaceutiques à base d'organo-mercurique* 103

D. Schvester. — *Essais comparatifs du malathion et du lindane pour la protection des stocks de Haricots grains contre la Bruche* Acanthoscelides obsolatus Say 29

D. Schvester et M. Rives. — *Nouveaux résultats d'essais du traitement sur Haricots contre la Mouche des semis* Hylemyia cilicrura Rond 21

M. Ritter. — *Essais préliminaires d'utilisation pratique de la chloropicrine dans la lutte contre l'Anguillule des racines* Meloidogyne incognita *en culture maraîchère* 73

G. Viel et M^lle^ Chancogne. — *Essais d'insecticides sur Ceratitis* Capitata *dans un verger de pêchers* 67

G. Viel et M^me^ Giban. — *Contribution à l'étude de la rétention du dibrométhane dans les sols* 61

Informations 51, 93, 159

TABLEAU IV

Dosage biologique d'un jus inconnu
Pourcentages de mortalité

Gamme de référence		Broyat inconnu	
Concentration en 7.175 R.P. mcg/g	% de mortalité	Dilution	% de mortalité
0,025	16	1/8	5
0,05	48	1/4	19
0,1	79	1/2	52
0,2	100	1	91

Les droites de régression ont les équations suivantes :

Témoin : $Y = x + 5,95$
Inconnu : $Y = x + 5,17$

Après calcul, nous avons :

$R = 0,58 \pm 0,04$

le broyat inconnu possède donc 58 % de l'activité du témoin.

La teneur en 7.175 R.P. peut être calculée :

$0,2 \times 0,58 \times 4 = 0,465$ mg/kg

et en exprimant les limites fiducielles ($P = 0,95$)

0,46 (0,50 — 0,43) mg/kg

au lieu de 0,5 mg/kg qui était la quantité ajoutée.

Dans ce cas, avec soixante larves par concentration on arrive à une précision supérieure à ± 10 %. Pour cela il est indispensable d'avoir, avec l'échelle de dilution choisie, au moins trois concentrations qui donnent une mortalité comprise entre 0 et 100 %.

La teneur du broyat doit donc être au minimum de 0,1 mg/kg, ce qui limite un peu la sensibilité du dosage.

Remarque

De nombreux dosages de plantes traitées par pulvérisation de solutions d'endothion ont été effectués simultanément par la méthode enzymatique (activité anticholinestérasique) et avec des larves de Cératites. Les écarts entre les valeurs obtenues suivant les dosages sont inférieurs à 10 %.

d) *Sensibilité du dosage*

Feuillage

Le broyat prêt à l'essai, sans dilution avec du broyat témoin (non traité) doit contenir au moins 0,1 mg/kg de 7.175 R.P. Comme

il a été dilué quatre fois (par rapport au feuillage), il faut donc que les feuilles contiennent au moins 0,4 mg/kg de 7.175 R.P.

Fruits

Le traitement appliqué aux feuilles peut s'appliquer tel quel aux fruits. Cependant nous avons vu que dans ce cas il était possible de réduire fortement les additions d'eau et de milieu carotte. La sensibilité dépend donc des propriétés des fruits eux-mêmes (broyage, élevage).

Pour les fruits que nous avons étudiés, voici les limites de sensibilité :

Citron	0,2 mg/kg
Pomme	0,2 mg/kg
Orange	0,15 mg/kg
Banane	0,1 mg/kg
Poire	0,1 mg/kg

e) *Augmentation de la sensibilité - Extraction du 7.175 R.P.*

Lorsqu'il est nécessaire de doser avec précision de faibles quantités de 7.175 R.P. (inférieures à 0,1 mg/kg), on doit concentrer le broyat et pour cela extraire le 7.175 R.P.

Nous résumons brièvement le mode opératoire que nous avons utilisé.

Le matériel végétal est broyé en présence d'acétone.

Le broyat obtenu est agité pendant quinze minutes, puis filtré sur supercel. Les résidus solides sont repris par de l'acétone et bien lavés.

Les filtrats sont réunis et extraits au chloroforme.

Le 7.175 R.P. passe dans la phase chloroformique et celle-ci est amenée à volume connu.

Une partie aliquote est alors évaporée à la température ordinaire à l'aide d'un courant d'air. Lorsqu'il ne reste plus que quelques ml de solution, on ajoute du supercel et on évapore à sec.

Le résidu est alors repris par le minimum d'eau et ajouté à du milieu carotte sans levure : on a ainsi le milieu de départ à doser qui pourra être dilué avec du milieu carotte.

L'extraction de plantes non traitées se fait de la même façon et la suspension dans l'eau des extraits végétaux obtenue après évaporation sert à préparer la gamme de référence.

Il nous a été possible de déterminer ainsi avec une précision de ± 10 % des teneurs en 7.175 R.P. de l'ordre de 0,05 mg/kg dans du feuillage de fève et de haricot.

Comme pour les dosages directs, on retrouve ici aussi environ 90 % de la quantité théorique en 7.175 R.P.

CONCLUSION

La sensiblité des larves de la Mouche méditerranéenne des fruits à quelques esters phosphoriques est très élevée. Les produits les plus actifs sont dans l'ordre décroissant :

parathion, endothion, malathion, diazinon, dipterex.

Sans préjuger de l'intérêt pratique de ces insecticides, cette propriété a permis de mettre au point une technique de dosage biologique de résidus d'endothion dans les végétaux à l'aide de ces larves.

La méthode sans extraction préalable de l'insecticide est très simple et rapide et permet de déterminer avec une précision de l'ordre de ± 10 % des teneurs de l'ordre de :

0,5 mg/kg dans le feuillage
0,2 à 0,1 mg/kg dans les fruits

suivant qu'ils conviennent ou non à l'élevage de la larve.

Des quantités plus faibles peuvent être dosées (0,05 mg/kg) mais pour cela une extraction préalable du 7.175 R.P. est nécessaire.

Ces techniques (dosage direct ou extraction préalable) n'ont pas encore été expérimentées sur d'autres esters phosphoriques, mais il est certain que moyennant peut-être quelques modifications, elles seraient parfaitement applicables au dosage des composés les plus actifs sur Ceratitis : parathion, malathion, diazinon, dipterex.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) M. Féron, P. Delanoué, F. Soria. — Entomophaga, *3*, 45, 1958.
(2) G. Viel, M. Chancogne. — Phytiatrie-Phytopharmacie, *6*, 217, 1957.
(3) R. Courtin, J. Hennequin. — Phytiatrie-Phytopharmacie, 7, 145, 1958.
(4) D.J. Finney. — Statistical Method in Biological Assay, p. 96, 1952. Hafner Publishing Compagny - New-York.
(5) D.J. Finney. — Probit Analysis - Cambridge University Press, 1952.

Laboratoires de Recherches de la Société des Usines Chimiques Rhône-Poulenc, Vitry-sur-Seine.

Note reçue le 15 avril 1959.

B. Hurpin, *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 8, 85-90, 1959

LES MALADIES DU VER BLANC (*Melolontha melolontha* L) ET ESSAI D'UTILISATION D'UNE MALADIE LAITEUSE INDIGENE

par B. HURPIN

Les vers blancs, sont l'objet de nombreuses maladies dont l'identification et l'étude de la pathogénèse ont été réalisées en collaboration avec C. Vago. Ces affections sont provoquées par de multiples germes : protozoaires, rickettsies, bactéries, champignons. Seules des viroses n'ont pas été mises en évidence jusqu'à présent. Parmi tous ces germes, certains jouent un rôle particulièrement important : par exemple les mycoses à *Beauveria*, une bactériose à *Pseudomonas* et une maladie dite « laiteuse » provoquée par une bactérie sporulée analogue à *Bacillus popilliae* Dutky employé aux U.S.A. pour la lutte contre le hanneton japonais *Popillia japonica* Newm.

Cette bactérie a été retenue pour procéder à la mise au point d'une méthode de lutte biologique contre les vers blancs, à cause de sa présence à l'état endémique dans diverses régions de France. Les essais de laboratoire ayant défini la virulence de cette souche pour les larves de *M. melolontha*, une expérimentation en parcelles est entreprise actuellement pour étudier les possibilités d'emploi dans la nature.

Du fait de sa biologie et du mode de vie souterraine de ses larves, *Melolontha melolontha* L. demeure un insecte difficile à combattre malgré le perfectionnement de l'appareillage et la mise au point des insecticides organiques de synthèse.

Sans insister sur les controverses suscitées par cette question, nous rappellerons que le hannetonnage chimique est une opération très délicate à réussir, justifiable économiquement seulement dans les régions où la superficie boisée ne dépasse pas 15 % du total et enfin très aléatoire puisque c'est une mesure préventive (Hurpin) (7).

Le traitement du sol avec un insecticide, beaucoup plus facile à réaliser, doit être pratiqué prudemment en raison des altérations possibles du goût de certains légumes, mais aussi à cause des incidences fâcheuses sur l'ensemble de la biocoenose terricole microfaune permanente ou stades hibernants de diverses espèces (d'Aguilar) (1).

Aussi d'autres procédés que les applications d'insecticides, préconisées dès la fin du siècle dernier à une époque où les méthodes chimiques étaient totalement inefficaces, restent d'actualité : emploi de moyens culturaux, recours à la lutte biologique.

Nous nous proposons de résumer ici les recherches en cours sur l'utilisation des maladies pour la lutte biologique contre les vers blancs et d'indiquer l'état actuel de la question.

Ces recherches, entreprises en 1951 à la Station de Zoologie de Rouen sont poursuivies et développées au Laboratoire de Lutte Biologique de La Minière depuis 1956.

Dans une première étape, nous avons cherché à dresser l'inventaire des principales affections susceptibles d'atteindre le Hanneton et sa larve en élevage au laboratoire aussi bien qu'en plein champ. Dans une seconde phase, certains germes sélectionnés parmi l'ensemble des parasites ainsi reconnus font l'objet d'études aussi approfondies que possible afin de parvenir à une utilisation judicieuse et rationnelle de leurs potentialités pour détruire les vers blancs, suivant une méthode rappelée récemment par Grison (4).

LES MALADIES DE M. MELOLONTHA

Dans nos élevages de vers blancs et au cours de sondages dans la nature, nous avons eu l'occasion d'observer des insectes (imagos et larves) malades ou morts à la suite d'une attaque de germes pathogènes. Nous nous sommes attachés, grâce à la collaboration de C. Vago, auquel nous faisons parvenir nos échantillons, à isoler et à définir ces germes, à caractériser leur virulence et leur pathogénèse pour *M. melolontha*. Plus de quatre mille individus ont été ainsi examinés, ce qui nous a permis de mettre en évidence les diverses maladies du Hanneton et de sa larve et de noter leurs fréquences relatives ainsi que le rôle de quelques facteurs écologiques dans le déclenchement de certaines épizooties. Une publication récente (Hurpin et Vago) (9) rapporte l'essentiel des données ainsi obtenues. Aussi, nous ne nous étendrons pas sur ce sujet et nous rappellerons simplement ici les principaux caractères des maladies du Hanneton.

Ces maladies sont provoquées par toutes les catégories classiques de germes pathogènes : champignons, bactéries, rickettsies, protozoaires. Seuls les virus manquent, comme d'ailleurs chez tous les autres coléoptères étudiés jusqu'à présent, pour une raison encore inconnue.

Les protozoaires se rencontrent rarement et n'ont par conséquent qu'une influence très restreinte dans les populations de vers blancs, les espèces pathogènes appartiennent à la famille des *Nosematidae*. Par contre presque toutes les larves hébergent des grégarines dans leur tube digestif, mais leur rôle parasitaire paraît très limité, sinon nul.

Les rickettsies, éléments de dimensions souvent inférieures au micron, d'apparence bactérienne, et qui sont toujours étroitement associés aux cellules, déterminent naturellement chez l'espèce voisine *Melolontha hippocastani* une affection dite « maladie bleue » à cause de l'aspect bleuâtre des larves atteintes. Celles-ci ont un corps adipeux anormal et de plus on enregistre une modification très caractéristique du comportement : à la fin de l'automne les larves

malades viennent à la surface du sol au lieu de s'enfoncer pour hiverner. Ces rickettsies se sont montrées très pathogènes, par injection et par ingestion pour les larves de *M. melolontha*. Malgré sa virulence pour certains vertébrés (Giroud et al.) (3) ce type de germe paraît intéressant pour la lutte biologique contre les vers blancs, mais nous ne développerons pas ici les études en cours sur ce sujet, tant au Laboratoire de La Minière qu'en Allemagne (Niklas) (10).

Les champignons se reconnaissent très facilement à la momification des cadavres qui deviennent durs et cassants puis à la sortie des hyphes et des conidies, mais l'identification des espèces est plus délicate et exige souvent l'avis de spécialistes. Outre les *Beauveria* (*B. densa* (Link.) Fries, *B. bassiana* (Bals.) Vuill, *B. effusa*) célèbres depuis les expériences de le Moult et qui sont de beaucoup les plus fréquents, de nombreux autres champignons se révèlent pathogènes pour *M. melolontha* qu'ils soient polyvalents comme *Metarrhizium anisopliae* (Metch.) Sor, *Spicaria farinosa* (From.) Vuill, les *Aspergillus, Penicillium,* etc... ou inféodés au Hanneton comme une espèce de *Mucor* et une souche de *Empusa.*

Parmi ces diverses espèces certaines sont incontestablement des parasites au sens strict (*Beauveria, Metarrhizium, Spicaria* principalement) alors que d'autres ne se comportent comme parasites que dans certaines conditions, en particulier en présence de blessures, les *Aspergillus,* les *Penicillium,* les *Fusarium* en sont des exemples typiques.

D'une façon générale, les mycoses représentent un des principaux facteurs de mortalité naturelle des vers blancs. La plupart de ces souches se cultivent très aisément, aussi nous envisageons de reprendre de façon détaillée l'étude des principales espèces en vue de leur utilisation éventuelle pour la destruction des vers blancs maintenant que l'écologie de l'hôte est mieux connue que du temps de le Moult.

Les bactéries parasites de *M. melolontha* sont de deux catégories : il y a des germes sporulés et des bactéries non sporulées. De très nombreuses espèces de ce dernier type ont été isolées. Ce sont des *Pseudomonas,* des *Aerobacter,* des *Serratia,* etc...

Certaines se trouvent très fréquemment et contaminent facilement les vers blancs dans des conditions expérimentales. Nous citerons en particulier une souche de *Pseudomonas septica* Bergey aisément reconnaissable à la fluorescence verte qu'elle communique aux insectes atteints comme aux milieux de culture.

Mais l'emploi de ces bactéries ne peut guère être envisagé pour des applications dans la nature en raison de l'absence des formes de résistance que constituent les spores.

Plusieurs espèces de bactéries sporulées s'attaquent également aux vers blancs. Elles déterminent deux sortes de maladies : les

maladies « noires » caractérisées par le noircissement des cadavres dès la mort et dues à des formes variées de *Bacillus cereus* ou d'espèces voisines : *B. mycoides, B. megatherium,* etc... et les maladies « blanches » ainsi nommées à cause de la couleur blanche généralisée qui apparaît plusieurs jours avant la mort (fig. 2).

Une telle maladie « laiteuse » a été identifiée sur *M. melolontha* dès 1950. Retrouvée en 1953 en Seine-Inférieure, c'est cette affection que nous avons retenue plus particulièrement et que nous étudions surtout depuis cette date. Ceci pour diverses raisons :

1°) C'est un germe, naturellement adapté à *M. melolontha* et spécifique à quelques espèces de *Melolonthidae,* qui forme une spore très résistante aux agents extérieurs.

2°) L'exemple des U.S.A., où une maladie analogue est utilisée depuis plusieurs années dans la pratique agricole pour la lutte contre le Hanneton japonais, *Popillia japonica* Newm, constitue un précédent encourageant.

Par contre cette bactérie présente un inconvénient important du fait de l'absence, jusqu'à présent, de milieux artificiels permettant d'obtenir sa sporulation. Cette difficulté toutefois, n'est pas insurmontable et les récents résultats obtenus par l'Institut Pasteur (Service des Vaccins) permettent d'espérer une solution à ce problème. D'autre part, les applications sont faites aux Etats-Unis avec une poudre de spores préparée par broyats de larves contaminées en laboratoire et commercialisée par diverses firmes.

ESSAI D'UTILISATION D'UNE MALADIE LAITEUSE INDIGÈNE

Alors que pour la plupart des autres affections décrites précédemment, les symptômes externes ne suffisent généralement pas à l'identification de l'agent étiologique, dans le cas de la maladie laiteuse l'hémolymphe et par suite les régions normalement transparentes du corps de la larve, telles que le pygidium, deviennent blanches opaques sur le vivant. Dans le sang on observe alors une prolifération d'organites relativement volumineux : bâtonnets minces non mobiles et formes sporulées constituées de deux parties : un corpuscule ovale et une inclusion non colorée (fig. 3). Outre cette morphologie et la difficulté de culture sur milieux artificiels, ce germe appelé « *Bacillus popilliae souche Melolontha* » à cause de son analogie avec le *Bacillus popilliae* Dutky, présente un certain nombre de particularités telles que sa grande résistance à la température : les spores supportent impunément un séjour de une heure à 80° C (Bonnefoi et Toucas) (2).

Cette bactérie introduite dans le sang détermine une septicémie dont les symptômes externes se manifestent chez les larves du troisième stade au bout de trois semaines environ à 20° C, la mort intervient une quinzaine de jours après.

Au cours de multiples essais de laboratoire réalisés à Rouen, puis à La Minière, les principaux caractères de la pathogénèse de

Figure 1
Ver blanc du troisième stade normal

Figure 2
Ver blanc du troisième stade présentant les symptômes de la maladie laiteuse

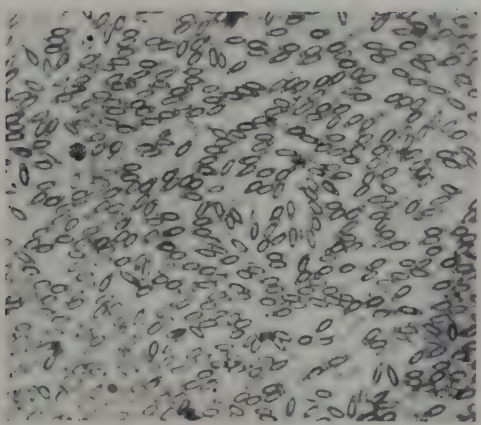


Figure 3
Spores de B. popilliae *souche « Melolontha » dans l'hémolymphe d'une larve du troisième stade (X 800)*

(Clichés Laboratoire de Lutte Biologique. La Minière)

cette souche ont été précisés : virulence par injection et par infection « per os » pour les diverses espèces de *Scarabeidae* phytophages de nos régions : *Melolontha, Amphimallon* sp., *Cetonia aurata, Oryctes nasicornis,* etc..., influence de la température, action de la dose de spores par injection intralymphale et par contamination de la terre des récipients d'élevages, maintien de la virulence au cours de passages successifs dans des séries d'hôtes, sensibilité des différents stades larvaires et compatibilité avec les processus de métamorphose (Hurpin) (8).

Les recherches ont montré que la maladie est pratiquement spécifique de *M. melolontha* et qu'elle se développe d'autant plus vite que la température ambiante est plus élevée; la sporulation ne se déclenche que s'il y a plus de 15° C, jusqu'à 22° C la maladie évolue lentement, si la température est plus forte les symptômes sont visibles plus vite, mais le taux de mortalité reste sensiblement le même. Aussi pour éviter la diminution de vitalité des larves aux températures très grandes (Hurpin) (6) nos essais sont effectués à 24° C.

Par ingestion ce sont les larves du troisième stade qui comptent le plus grand nombre de malades : il est probable qu'il s'agit plutôt d'une conséquence de leur appétit et de leur activité beaucoup plus intenses que chez les larves plus jeunes, ce qui les amène à absorber plus de germes, que d'une plus grande sensibilité à la bactérie.

Le pourcentage d'infection ne paraît guère dépendre de la dose de spores : par injection les résultats sont comparables pour toutes les doses supérieures à 10.000 spores par individu, il en est de même « per os » s'il y a au moins 100.000 spores par gramme de terre. La souche conserve sa virulence au cours de passages de ver à ver et son développement peut se poursuivre pendant la métamorphose, mais les nymphes sont plus résistantes que les larves tandis que les jeunes imagos sont très sensibles, ce qui élimine les possibilités de transmissions à la génération suivante.

Les très intéressants résultats obtenus à ce jour nous ont conduit à entreprendre dans la Sarthe, en 1958, une expérimentation dans la nature, qui a été poursuivie en 1959 *.

Les expériences doivent nous conduire à déterminer les facteurs écologiques de développement de la maladie (rôle des stades physiologiques des larves, de leur densité, de la culture) et à établir les conditions d'emploi de la bactérie comme agent insecticide.

Ces expériences, dont les résultats seront appréciés en 1960, montreront dans quelle mesure il sera possible de limiter efficacement les populations de Vers blancs selon une pratique analogue

(*) Je remercie très vivement le Conseil Général et la Chambre d'Agriculture de la Sarthe pour l'intérêt qu'ils ont pris à nos recherches et la participation financière qu'ils ont bien voulu nous accorder pour la réalisation de ces essais.

à celle qui est utilisée depuis longtemps et sur une grande échelle aux Etats-Unis : d'après un rapport de HORBER (5), de 1930 à 1950, 37.000 hectares ont été traités par cette méthode et l'expérience américaine montre que dans les parcelles ayant reçu de la poudre de spores, la maladie non seulement se maintient mais se développe avec le temps de sorte qu'elles arrivent à être pratiquement débarrassées des Vers blancs (WHITE) (12).

La lutte microbiologique contre les larves souterraines d'Insectes ravageurs des cultures, qui est également mise au point en U.R.S.S. (11), peut être appelée à se développer non seulement par l'utilisation de la maladie laiteuse mais aussi par le recours à d'autres germes sans négliger l'action combinée de ceux-ci avec d'autres pesticides.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) D'AGUILAR J. — L'influence des traitements pesticides sur les zoocénoses terricoles. *Rev. Zool. Agric. Appl.*, 55, 109-116, 1956.

(2) BONNEFOI A. et TOUCAS M. — Essai sur la thermorésistance de l'organisme responsable de la maladie laiteuse de la larve du Hanneton commun (*Melolontha melolontha* L.), *Entomophaga* 4, (3), 227-232, 1959.

(3) GIROUD P., DUMAS N. et HURPIN B. — Essais d'adaptation à la souris blanche de la rickettsie, agent de la maladie bleue de *Melolontha melolontha* L. : voie pulmonaire et voie buccale. *C.R. Acad. Sci.*, 247, 2.499-2.501, 1958.

(4) GRISON P. — Quelques aspects de la lutte microbiologique contre les Insectes ravageurs des cultures. *Ann. Epiphyties*, 4, 543-562, 1956.

(5) HORBER E. — Über die Bekämpfung der Maikäfer und Engerlinge in den U.S.A. und Kanada. *Mitt. Schweiz. Landw*, II, 161-172, 1953.

(6) HURPIN B. — Développement des larves de *Melolontha melolontha* L. (Coleopt. *Scarabeidae*) à différentes températures constantes. *Ann. Epiphyties*, 529-534, 1955.

(7) HURPIN B. — Influence de la température et de l'humidité du sol sur le développement embryonnaire du Hanneton commun (*Melolontha melolontha* L.). *Rev. Path. Vég. Ent. Agric.*, 35, 75-92, 1956.

(8) HURPIN B. — Etudes de diverses souches de maladie laiteuse sur les larves de *M. melolontha* L. et de quelques espèces voisines. *Entomophaga* 4 (3), 233-248, 1959.

(9) HURPIN B. et VAGO C. — Les maladies du Hanneton commun (*Melolontha melolontha* L.), (Col. *Scarabeidae*). *Entomophaga*, 3, 286-330, 1958.

(10) NIKLAS O.F. — Untersuchngen über das Auftreten von Kankheiten und Schädigungen, insbesondere über die « Lorscher Seuche » (*Rickettsia melolonthae* KRIEG) in Freiland-Populationen des Maikäfer-Engerlings (*Melolontha* sp.)-*Ztsch. Pfl. Krankh.*, 63, 81-95, 1956.

(11) TELENGA N.A. — Biological method of pest control in crops and forest plants in the U.S.S.R. *IX^e Int. Conf. Quarantine and Plant Prot.* Moscou. 1958.

(12) WHITE R.T. — Development of milky disease on Japanese beetle larvae under fiels conditions. *J. Econ. Ent.* 34, 213-215, 1941.

I.N.R.A. Laboratoire de Lutte Biologique. La Minière par Versailles (S.-et-O.).

Note reçue le 18 mars 1959.

J. Ponchet, *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 8, 91-102, 1959

ESSAIS DE PRODUITS AU LABORATOIRE ET EN SERRE SUR LE DÉVELOPPEMENT DU *Cercosporella herpotrichoides* FRON AGENT DU PIÉTIN-VERSE DES CÉRÉALES

par J. PONCHET

La lutte contre le piétin-verse des Céréales, par l'application de traitements chimiques, pose des problèmes difficiles à résoudre. Un seul traitement doit être envisagé pour protéger une culture pendant plusieurs mois, il doit être situé avec précision et réalisé avec un produit suffisamment pénétrant. Le parasite étant présent dans les tissus des gaines des feuilles, il faut l'y atteindre, pour qu'il ne puisse pas contaminer la tige.

Divers essais effectués au laboratoire ou en serre ont permis d'étudier les effets des desherbants de synthèse sur le développement de la maladie. Ils ont servi, en outre, à comparer l'efficacité des fongicides des classiques dans le cas particulier du piétin-verse.

INTRODUCTION

On sait, depuis les travaux de Foex et de Rosella (1-2) en France, depuis ceux de Sprague aux Etats-Unis (8), qu'il est possible de lutter contre les attaques du *Cercosporella herpotrichoides* Fron, par l'application de traitements chimiques. Les auteurs français, en particulier, ont montré, à la suite de nombreux essais, que l'acide sulfurique réduisait notablement les attaques du piétin-verse tout en possédant des propriétés désherbantes convenables.

En raison de son action dépressive sur le rendement du blé et de divers inconvénients pratiques, la méthode n'a jamais connu un grand succès. Depuis l'époque, déjà lointaine, où l'acide sulfurique et quelques produits minéraux pouvaient, seuls, entrer en comparaison dans les essais, de gros progrès ont été accomplis en phytopharmacie. Il était nécessaire d'en chercher l'utilisation dans le domaine si particulier de la lutte contre le piétin-verse des céréales.

POSSIBILITÉS DE LUTTE CHIMIQUE CONTRE LE PIÉTIN-VERSE

Le traitement chimique des céréales en cours de végétation est soumis à un certain nombre d'impératifs dont il convient de tenir compte. En premier lieu, un impératif d'ordre économique qui limite à un ou deux traitements les possibilités d'intervention sur une culture qu'il faut protéger pendant de nombreux mois. En second lieu, interviennent les données biologiques particulières de la maladie. Le *C. herpotrichoides* s'installant au cours de l'automne et de l'hiver, il n'est pas possible de l'éliminer par des traitements préventifs classiques. Force étant d'accepter le fait, la maladie est installée sur la culture lorsqu'un traitement devient souhaitable. Il s'agit alors de le placer avec une grande précision, dès le début du stade de la montaison, son action ayant pour but essentiel d'éviter la contamination du premier entrenœud de la tige au contact des gaines malades qui le protègent.

Avant ce stade critique de l'élongation de la tige, on peut prévoir l'importance de l'attaque qui sévira plus tard à la récolte; on peut surtout prévoir le dépassement du seuil de nuisibilité, c'est-à-dire la nécessité du traitement chimique pour une année considérée.

Dans de telles conditions, il est vain d'espérer une destruction totale du parasite et un fongicide doit être considéré comme efficace s'il permet d'éviter que le seuil de nuisibilité ne soit dépassé.

Un fongicide efficace doit nécessairement avoir une action pénétrante, s'introduire entre les gaines malades, après avoir ruisselé sur les feuilles et persister suffisamment longtemps si son action, comme celle de l'acide sulfurique, n'est pas éradicante.

De nombreux produits ont été mis à l'essai et expérimentés en premier lieu au laboratoire et en serre. Parmi ces produits, figurent certaines substances utilisées comme désherbantes ou possédant une action voisine; elles nous ont été fournies par le laboratoire de physiologie de R. Longchamp.

Il était nécessaire de connaître les effets de certaines de ces substances sur le développement du piétin-verse, puisqu'elles sont couramment utilisées sur les céréales à l'époque où l'on pourrait effectuer un traitement fongicide.

Les produits anticrytogamiques classiques ont, par ailleurs, été comparés entre eux, dans leur activité contre le parasite.

MATÉRIEL UTILISÉ ET MÉTHODES SUIVIES

Au laboratoire, deux méthodes différentes ont permis d'étudier l'action de divers produits sur la croissance « in vitro » du *C. herpotrichoides.*

La première consiste à cultiver le champignon sur une bande de papier buvard épais, de 2 cm de large, disposée verticalement dans des tubes à essai. Des quantités égales d'une solution à étudier sont placées dans le fond des tubes, additionnées ou non de substances nutritives; le champignon est ensemencé en un point fixe, marqué au crayon au moment de la préparation des bandes de papier.

Pour mesurer les diamètres des colonies obtenues, on peut utiliser une échelle dessinée sur le papier ou extraire les bandes de leurs tubes.

La deuxième méthode utilisée consiste à solidifier le milieu en y incorporant 2 % de gélose; les cultures sont alors étudiées en boîtes de Pétri. Le *C. herpotrichoides* se développe sur de l'eau gélosée en donnant une colonie très étalée en surface; si le milieu est riche en substances nutritives, ses colonies ont la forme de touffes mycéliennes dont l'étalement est lent, rendant les mesures plus délicates et moins précises.

Les essais en serre, sur plantules, ont été conduits suivant une méthode décrite dans les Annales des Epiphyties (5). La notation du pourcentage de gaines portant des stromas est fort utile pour l'étude de l'action des produits pouvant intervenir dans la croissance de la plante hôte. Elle permet, en outre, de mettre en évidence des fongicides à action éradicante, lorsque les traitements sont pratiqués après l'apparition des premiers symptômes. Le pourcentage des plantes saines revêt également, dans ce cas particulier, une importance certaine; il a été pris en considération, comme devant être une preuve corollaire de l'efficacité des produits mis en expérience.

Dans tous les essais, en laboratoire ou en serre, on a utilisé une souche du *C. herpotrichoides* issue d'une seule conidie, les cultures étant conservées et multipliées sur un milieu à base de pommes de terre, liquide ou solidifié.

Les traitements de terrines de cinquante plantes ont tous été pratiqués sous forme de pulvérisations, à l'aide d'un atomiseur (pistolet à peinture) débitant 50 cc par minute. L'aspiration du liquide est effectuée dans une éprouvette graduée de façon à bien contrôler les quantités de produit répandues. L'arrosage des plantes a été réalisé en versant l'eau directement sur la terre, pour éviter un lessivage trop rapide et anormal des résidus déposés sur les feuilles et les gaines. Un minimum de trois répétitions par traitement a été respecté.

RÉSULTATS OBTENUS

De 1952 à 1957, de nombreux essais ont été réalisés, au cours des périodes de l'année où la température et l'hygrométrie permet-

tent un développement normal du piétin-verse en serre (de septembre à mai en général).

1° - Essais avec des substances à action physiologique

Un essai préliminaire sur papier, en tubes à essai, a montré que certaines substances à action physiologique pouvaient intervenir dans le développement du *C. herpotrichoides.*

C'est ainsi qu'à la concentration de 1 pour 1.000, les résultats suivants ont été enregistrés :

a) Aucune croissance du champignon lorsque le milieu contenait :
- — Acide pentachlorophénoxyacétique et son sel de sodium.
- — 2-4 dinitrobutylphénate d'ammonium.
- — Acide nitrile naphtyl acétique.
- — Pentachlorophénoxyacétate de méthyle.
- — Acide parachlorophénoxyacétique.
- — Sel de sodium du M.C.P.A.

b) Inhibition de croissance très nette avec :
- — Ester éthylique du M.C.P.A.
- — 2-4 dichlorophénoxyacétate de méthyle.
- — 2-4 dichlorophénoxyacétate d'éthyle.

c) Croissance normale avec les produits suivants :
- — Acide 2-4-5- trichlorophénoxy-propionique.
- — Sel de diéthanolamine de l'hydrazide maléique.
- — Xanthate de sodium.
- — 2-4 dichlorophénoxyacétate de sodium.
- — 2-4-5 trichlorophénoxyacétate de sodium.
- — Acide naphtyl acétique.
- — Chlorhydrate de N méthylphényl glycocolle.
- — Phényl thio-urethane.
- — Acide naphtyl phtalamique.
- — Trichlorophénoxyacétate de méthyle.

A la concentration de 0,1 pour mille, seuls l'acide pentachlorophénoxyacétique et son sel de sodium, ont empêché tout développement du champignon.

Parmi les différentes substances étudiées, certaines méritaient une étude en serre, sur des plantes malades. L'infection a été réalisée au stade une feuille, le traitement appliqué vingt-cinq jours après et la notation quinze jours après le traitement (laps de temps nécessaire pour la traversée de deux gaines).

Le nombre de traitements était trop important pour qu'un seul essai puisse être effectué et conduit avec soin; les notations, en particulier, ne devant pas être échelonnées. Trois essais ont été

nécessaires, séparés par sept jours. Pour pouvoir les comparer, on a établi les pourcentages d'activité par rapport au témoin correspondant, dans chaque essai; les traitements efficaces étant affectés d'une valeur inférieure à 100.

Le tableau I donne, pour les concentrations 1 pour mille et 0,1 pour mille, les résultats ainsi exprimés, de même que les pourcentages de tiges saines correspondants.

TABLEAU I

Effets de substances à action physiologique sur le développement du piétin-verse en serre

Produits	Concentrations étudiées $1,10^{-3}$		$1,10^{-4}$	
	Activité	Tiges saines p. cent	Activité	Tiges saines p. cent
Sel de sodium du 2-4-D	—	—	71	18
Ester éthylique du 2-4-D	90 *	8	94	5
Ester isopropylique du 2-4-D	145 *	0	82	5
Acide parachlorophénoxyacétique .	125 *	0	48 *	40
M.C.P.A. (sel de sodium)	108 *	1	130	1
M.C.P.A. (ester éthylique)	*	*	89 *	16
Pentachlorophénoxyacétate de méthyle	—	—	85 *	27
Pentachlorophénoxyacétate de sodium	—	—	106	24
Hydrazide maléique (sel de diéthanolamine)	90 *	12	112	4
Chlorydrate de N méthyl phényl glycocolle	—	—	76	11
Xanthate de soude	—	—	87	6
Acide naphtylacétique	—	—	115	3
Acide naphtylphtalamique	—	—	110	5
Témoin non traité	100	5	100	5

(*) Toxicité, arrêt de croissance ou anomalies observées sur les plantes.

La toxicité des produits sur les plantes s'est manifestée de différentes manières. Les plantes traitées avec l'acide parachlorophénoxyacétique à 1 p. 1.000, avaient une feuille de moins que les plantes non traitées; celles traitées avec les esters du 2-4-D ont réagi de la même façon et l'extrémité des feuilles a jauni rapidement. L'hydrazide maléique a inhibé nettement la croissance à la concentration de 1 p. 1.000, les feuilles restant plus courtes et les

tiges devenant coriaces. Des talles sont apparues (une à deux par plante), fréquemment attaquées par le piétin et compliquant ainsi la notation.

A 1 p. 1.000, l'ester éthylique du M.C.P.A. a tué les plantes, à 0,1 p. 1.000 il donne des plantes à feuilles courtes, à tiges grêles mais coriaces. Le sel de sodium du M.C.P.A. est légèrement moins toxique.

Parmi les différentes substances expérimentées, cinq ont été retenues pour de nouveaux essais, à cause de leur utilisation dans le désherbage sélectif des céréales ou des particularités de leur mode d'action. Les diverses concentrations choisies ont été utilisées à la fois en serre et en laboratoire, sur milieu solidifié. Les diamètres des colonies obtenues sur gélose ont été mesurés après dix jours d'incubation à une température de 20°.

L'aspect des colonies était fort variable en fonction du produit utilisé, allant de la touffe hémisphérique blanche, cotonneuse, à une zone étalée, grisâtre, sans ramifications aériennes. On trouvera dans le tableau II les résultats obtenus.

TABLEAU II

Diamètre des colonies du C. herpotrichoides *obtenues sur différentes concentrations de produits chimiques, en boîte de Pétri*

Produits	Concentrations				
	$5{,}10^{-3}$	$2{,}510^{-3}$	10^{-3}	$5\ 10^{-4}$	10^{-4}
Hydrazide maléique	0	3	6	12	13
Ester éthylique du 2-4-D	0	3	8	10	22
Ester isopropylique du 2-4-D	0	6	13	18	18
Ester éthylique du M.C.P.A. .	0	2	6	20	26
Sel de sodium du M.C.P.A. ..	0	0	5	14	20

En serre, deux essais successifs ont été effectués avec les mêmes produits, sur trois répétitions. Les traitements ont, cette fois, été pratiqués dix jours après l'inoculation et les notations vingt jours plus tard. Les résultats obtenus sur les plantes témoins étant très voisins, on peut, sans difficultés, comparer les deux essais avec les différents critères de notation utilisés. Dans le tableau III, ces critères sont : le nombre moyen de gaines portant des stromas, le nombre total de gaines, le pourcentage de gaines pénétrées, calculé d'après les deux données précédentes et le pourcentage de tiges restées saines.

TABLEAU III

Effets de quelques substances à action physiologique sur le développement du piétin-verse en serre

Produits	Nombre gaines malades	Nombre de gaines	gaines malades	tiges saines %
Essai I :				
Hydrazide maléique :				
1.10^{-3}	2,22	4,19	53	6
5.10^{-4}	2,35	4,34	54	8
1.10^{-4}	2,27	4,28	53	8
Ester éthylique du 2-4-D :				
1.10^{-3}	2,09	3,95	53	4
5.10^{-4}	2,35	4,22	56	2
1.10^{-4}	2,26	4,08	55	5
Ester isopropylique du 2-4-D :				
5.10^{-5}	2,65	4,25	62	1
1.10^{-5}	2,23	4,01	56	5
Sel de sodium du M.C.P.A. :				
1.10^{-3}	2,59	4,01	64	1
5.10^{-4}	2,43	4,00	61	0
1.10^{-4}	2,31	4,09	56	4
Ester éthylique du M.C.P.A. :				
1.10^{-3}		plantes tuées		
5.10^{-4}	2,47	4,22	59	1
1.10^{-4}	2,12	4,01	53	1
Témoin traité à l'eau	2,38	4,20	56	1
Essai II :				
Hydrazide maléique :				
1.10^{-3}	2,31	4,36	53	0
$2,5.10^{-3}$	2,05	3,97	52	2
5.10^{-3}	0,79	2,57	31	22
$7,5.10^{-3}$	0,50	2,21	23	29
1.10^{-2}	1,27	2,49	51	16
Ester isopropylique du 2-4-D :				
1.10^{-3}	1,65	3,47	47	5
5.10^{-4}	1,22	3,31	37	15
1.10^{-4}	2,11	3,85	54	2
Témoin traité à l'eau	2,20	3,92	56	1

Après lecture des tableaux II et III, on constate que les différentes substances expérimentées n'ont pratiquement aucune valeur fongicide vis-à-vis du *C. herpotrichoides*. Des symptômes de toxicité, déjà signalés précédemment, ont encore été notés mais dans

une plus faible mesure, les plantes ayant été maintenues en atmosphère très humide (degré hygrométrique voisin de 90 %), abritées du soleil et maintenues à une température inférieure à 12° (essais réalisés de fin décembre à février).

L'hydrazide maléique a une action sur le piétin-verse entre les concentrations 1/100 et 1/1.000, cette action étant malheureusement accompagnée d'une forte inhibition de la croissance du blé.

L'ester isopropylique du 2-4-D a une légère activité à 0,5 p. mille, mais dans des limites trop rapprochées pour être d'un intérêt quelconque.

En général, les faibles concentrations n'ont aucune action sur la maladie, sans pour autant l'accentuer. Il semble bien que les substances à action physiologique et, en particulier, celles couramment utilisées dans le désherbage, n'interviennent pas dans le développement du piétin-verse.

2° - Traitements du sol ou des semences

Etant donné les caractéristiques biologiques du piétin-verse, il n'est pas permis de fonder quelque espoir sur l'efficacité éventuelle d'un traitement de semences. De tels traitements ont une action limitée dans le temps. Un mois après le semis, c'est-à-dire au moment où se produisent en général les premières contaminations par des conidies du *C. herpotrichoides*, les désinfectants apportés par la semence traitée ne jouent plus aucun rôle. De plus, ils ne sauraient intervenir dans une infection des parties aériennes, à moins qu'ils ne soient très persistants et doués de propriétés endothérapiques. A fortiori, on peut admettre l'inutilité de tels traitements, dirigés spécialement contre le piétin, lorsque les contaminations se produisent plusieurs mois après les semailles.

Une inoculation artificielle sur des plantules issues de semences enrobées a été cependant effectuée, dès la levée, à titre indicatif. Seul, l'hexachlorobenzène s'est montré légèrement actif, tous les autres produits se sont avérés inefficaces ou ont légèrement augmenté le pourcentage de gaines malades.

Les traitements du sol ne peuvent pas non plus présenter un intérêt dans la lutte contre le piétin-verse, pour les raisons biologiques déjà énumérées et, en outre, pour des raisons économiques. Néanmoins, il était intéressant de rechercher l'influence de ces traitements, éventuellement réalisés dans un autre but, sur les manifestations du piétin. On a surtout pris en considération les produits préconisés contre la carie du blé. Le tableau IV présente les résultats obtenus dans cet essai.

TABLEAU IV

Effets des traitements du sol sur le piétin-verse

Produits	Doses	gaines malades	tiges saines %
Pentachloronitrobenzène 15 % M.A. .	50 kg/ha	2,9	20
Pentachloronitrobenzène 15 % M.A. .	100 kg/ha	2,0	56
Hexachlorobenzène 44 % M.A.	50 kg/ha	1,4	42
Benzoate d'O.oxyquinoléine	200 l/ha	3,4	13
Pentachlorophénoxyacétate de sodium 10 % M.A.	12 kg/ha	1,7	57
Acide pentachlorophénoxyacétique 10 % M.A.	12 kg/ha	2,7	25
Témoin		3,5	0

Les dérivés benzèniques et, en particulier l'hexachlorobenzène, ont une action sur le *C. herpotrichoides* lorsqu'ils sont incorporés au sol. Ce résultat confirme l'hypothèse d'une activité endothérapique de l'hexachlorobenzène qui avait déjà été émise, concernant son action anticarie après réalisation de l'infection par le *Tilletia caries* (D.C.) TUL. Cette activité peut également expliquer l'efficacité de ce même produit, utilisé en traitement de semences.

3° - Essais de produits fongicides

Tous les produits expérimentés ont été appliqués quinze jours après l'inoculation artificielle, de façon à ne retenir que ceux dont l'action éradicante ou pénétrante était suffisante pour pouvoir ensuite être essayée en champ. Le premier essai, réalisé en février et mars 1955 comportait quatre répétitions de cinquante plantes. Il a été noté quinze jours après le traitement, donnant les résultats présentés dans le tableau V.

TABLEAU V

Produits et doses	gaines malades	Nombre de gaines	gaines malades %	tiges saines %
Chlorhydrate de chloroglycinephenylmercure 2,6 % Hg utilisé à 0,15 p. cent	0,99	4,94	20,0	52
Captane 50 %, M.A. 0,25 p. cent	0,96	4,85	20,0	49
Zinèbe 65 % M.A. 0,25 p. cent	1,51	4,93	30,6	32
Ethylène bisdithiocarbamate de sodium 19 % M.A. 1 p. cent	1,63	4,97	32,7	35
Mercaptobenzothiazole (sel de sodium) 0,5 p. mille	2,70	5,00	54,0	0
Bromure de diméthyl dodecyl carbetoxymethyl ammonium 0,1 p. cent	2,42	4,81	50,3	3
50 p. cent Zinèbe, 12 p. cent cuivre de l'oxychlorure 0,25 p. cent	2,51	4,87	51,4	2
Dinitrocrésolate d'ammon. 0,5 p. mille	2,44	4,90	49,7	2
Oxychlorure tetracuivrique 50 % M.A., 0,5 p. cent	2,36	4,89	48,2	0
Témoin traité à l'eau	2,37	4,61	51,5	1

Seul, le produit organomercurique a provoqué des brûlures sur les premières feuilles, provoquant leur jaunissement au bout de huit jours. Ce fongicide s'est montré par ailleurs très efficace, limitant la pénétration de la maladie à la première gaine, tandis que plus de deux gaines des plantes non traitées étaient traversées.

Le captane a une efficacité très voisine, viennent ensuite le zinèbe et l'éthylène bisdithiocarbamate de sodium.

Le zinèbe mélangé à l'oxychlorure de cuivre n'est plus actif; lors d'un essai antérieur, dans lequel les traitements avaient été effectués avant la contamination, la bouillie bordelaise s'était montrée totalement inefficace. Il semble bien que les dérivés cupriques soient sans intérêt dans la lutte contre le piétin-verse, l'oxychlorure tétracuivrique utilisé seul dans le présent essai, en est une preuve supplémentaire.

Le dinitrocrésolate d'ammonium, utilisé comme désherbant précoce, n'est pas doué, non plus, de propriétés fongicides vis-à-vis du *C. herpotrichoides*.

Un deuxième essai a été effectué en 1957 au cours des mois d'avril et mai; les conditions de milieu ont permis un développement plus rapide des plantes et de la maladie. Quatre répétitions de cinquante plantes ont été traitées quinze jours après l'inoculation et notées quinze jours plus tard, le tableau VI consigne les données recueillies.

Tableau VI

Produits et doses	gaines malades	Nombre de gaines	gaines malades %	tiges saines %
Chlorhydrate de chloroglycine phénylmerc. 2,6 % Hg 0,15 p. cent	0,06	5,30	1	93
Captane 50 % M.A. .. 1 p. cent	1,55	5,31	20	38
Zinèbe 65 % M.A. .... 1 p. cent	1,20	5,29	22	52
Dichlone 50 % M.A. .. 1 p. cent	2,61	5,16	50	13
Bouillie bordelaise .... 2 p. cent	2,76	5,14	54	10
Oxyquinoléate de Cu 20 % de M.A. .... 1 p. cent	0,53	5,20	10	77
Témoin traité à l'eau	3,10	5,26	60	1

Le dérivé organomercurique a, de nouveau, provoqué le jaunissement des premières feuilles et des brûlures sur les plus jeunes. Son action curative est plus nette que dans le premier essai, le parasite ayant pu, dans les conditions du second, traverser plus de trois gaines successives des plantes non traitées.

Le captane, le zinèbe, utilisés cette fois à 1 %, gardent une efficacité certaine, mais bien inférieure à celle du dérivé organomercurique. L'oxyquinoléate de cuivre, mis à l'essai pour la première fois, s'est montré très actif. Par contre la dichloronaphtoquinone et, de

nouveau, la bouillie bordelaise sont restées sans action sur le piétin-verse.

CONCLUSION

Le traitement du piétin-verse du blé est théoriquement réalisable, mais soumis à un certain nombre d'impératifs. En champ, on ne peut effectuer qu'un essai de traitement par an, dans les conditions naturelles. Pour étudier l'efficacité des différents produits une méthode rapide a été mise au point, qui permet, en serre, de comparer les traitements avec objectivité et en fonction des propriétés qui leur sont demandées.

De nombreuses substances à action physiologique ont été expérimentées, certaines ont une activité intéressante pour l'étude des interactions hôte-parasite; aucune d'entre elles ne s'est montrée fongicide, avec suffisamment de netteté, pour offrir un intérêt agronomique. Les désherbants de synthèse, en particulier, n'ont pas d'action sur le développement du piétin.

Parmi les fongicides classiques, les dérivés cupriques ne sont pas efficaces. Par contre, le captane, le zinèbe, le quinoléate de cuivre ont montré une efficacité certaine qu'il est nécessaire de vérifier par des essais en champ. Un dérivé organomercurique s'est révélé particulièrement actif, possédant des propriétés éradicantes, malgré une légère toxicité perceptible après le traitement. La phytoxicité est limitée et ne modifie pas la croissance des plantes.

Les recherches, concernant la lutte chimique contre le piétin-verse, doivent être orientées vers la mise en évidence de produits à action nettement curative, susceptibles de remplacer avantageusement l'acide sulfurique.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(1) Foex E. et Rosella E. — Quelques observations sur le piétin des Céréales. *Rev. Path. Végét. Ent. Agr.*, XX, 172, 1933.

(2) Foex E. — Etude expérimentale des piétins du Blé au cours de la campagne 1934-35. *Ann. Epiphyties*, II, 1, 1936.

(3) Glynne M.D. et Moore F.J. — Effect of previous crops on the incidence of eye-spot on winter wheat. *Ann. Appl. Biol.*, 36, 341, 1949.

(4) Ponchet J. — La prévision des épidémies du piétin-verse *Cercosporella herpotrichoides* Fron. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 7, 133, 1958.

(5) Ponchet J. — La maladie du piétin-verse des céréales : *Cercosporella herpotrichoides*, importance agronomique, biologie, épiphytologie. *Ann. Epiphyties*, I, 45, 1959.

(6) Rabate M.E. — Emploi de l'acide sulfurique pour la destruction des herbes et pour la lutte contre divers parasites. *Rev. Path. Végét. Ent. Agr.*, XI, 288, 1924.

(7) Salt G.A. — A field experiment on wheat infected with eyespot. *Ann. Appl. Biol.*, 40, 224, 1953.

(8) Sprague R. et Fellows H. — *Cercosporella* foot rot of winter wheat. *U.S.D.A. Tech. Bull.*, 428, 1, 1934.

I.N.R.A., Station Centrale de Pathologie Végétale, route de St-Cyr, Versailles.

Note reçue le 15 avril 1959.

C. Grosclaude et J. Simone, *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 8, 103-107, 1959

ESSAIS DE QUELQUES FONGICIDES ORGANOCUPRIQUES DANS LA LUTTE CONTRE LA CLOQUE DU PECHER

par C. GROSCLAUDE et J. SIMONE

Dans la lutte contre la cloque du pêcher, au moyen de mélanges fongicides organo-cupriques, des résultats satisfaisants ont été obtenus avec le mélange zirame-cuivre. Deux formules mixtes zinèbe-cuivre n'ont pas donné, par contre, une protection suffisante.

L'efficacité du mélange zirame-cuivre s'est montrée égale ou peu inférieure à la bouillie bordelaise.

Dans des essais réalisés en 1956-1957, nous avions mis en évidence l'efficacité du zirame dans la lutte contre la cloque du pêcher, efficacité comparable à celle de la bouillie bordelaise, tandis qu'avec le zinèbe nous n'obtenions pas une protection satisfaisante des arbres traités (1). Les essais entrepris par la Station de Pathologie Végétale du Sud-Ouest au cours de la période 1957-1958, pour compléter les résultats déjà acquis, ont eu pour but de tester diverses formules organocupriques, la bouillie bordelaise restant le produit de référence.

RÉALISATION DE L'ESSAI

L'expérimentation a été conduite dans deux vergers :

— le premier, situé à Latresne (Gironde) sur les côteaux de la rive droite de la Garonne, comportait environ 150 arbres de la variété Madame Girerd;

— le second se trouvait à Virelade (Gironde), au voisinage de la Garonne et comptait 50 arbres de la variété July Elberta.

Dans chaque verger, les produits suivants ont été utilisés :

— un produit que nous désignerons par BO, composé de 5,45 % de zinèbe et 13,6 % de cuivre (sulfate de cuivre). La dose d'emploi était de 1 % du produit commercial;

— un mélange de 15 % de zinèbe et 37,5 % de cuivre (oxychlorure de cuivre) que nous désignerons par le symbole CuP, à la dose de 0,5 % du produit commercial;

— un mélange de 15 % de zirame et de 33 % de cuivre (sulfate basique de cuivre) (symbole ZC), à la dose de 0,5 % du produit commercial;

— la bouillie bordelaise (BB) à 2 % de sulfate de cuivre servait de produit de référence;

— un témoin non traité (T) complétait la série ci-dessus.

Dans chaque verger :

1° - un premier traitement fut réalisé à la chute des feuilles entre le 12 et le 14 novembre 1957 sur le premier et le second tiers de la plantation;

2° - un second traitement, réalisé au prédébourrement les 14 et 15 février 1958, intéressa le deuxième et le dernier tiers de la plantation.

Il y avait donc trois blocs ayant reçu respectivement :

— le traitement 1 à l'automne;
— les traitements 1 et 2 à l'automne et au prédébourrement;
— le traitement 2 au prédébourrement.

Le produit ZC fut appliqué au second traitement sous une forme micronisée.

NOTATION DES RÉSULTATS

Les notations furent faites les 2 et 3 mai 1958,

Le système utilisé fut le suivant : sur une branche représentant le mieux possible l'état moyen de la parcelle, on procède au comptage du nombre total de bouquets de feuilles issus d'un même bourgeon; soit a ce nombre de bouquets.

Sur cette branche, on compte ensuite le nombre b de bouquets présentant une ou plusieurs feuilles cloquées. Enfin, on compte le nombre c de feuilles cloquées sur l'ensemble de ces bouquets malades. Ces feuilles sont arrachées au fur et à mesure du comptage, ce qui permet d'éviter des erreurs sans nuire à l'arbre de façon excessive.

L'importance de la maladie est fonction, en premier lieu, du *pourcentage de bouquets malades* (c'est-à-dire de bourgeons infectés). Ce pourcentage s'exprimera par la formule $\frac{100 \cdot b}{a}$; mais toutes les feuilles issues d'un bourgeon contaminé ne sont pas obligatoirement cloquées. La gravité de la maladie dépend donc, en second

lieu, du *nombre de feuilles cloquées par bouquet malade* (c'est-à-dire $\frac{c}{b}$).

Pour tenir compte de ces deux données, on voit que l'on pourra évaluer l'intensité de la maladie au moyen du produit :

$$\frac{100 \cdot b}{a} \cdot \frac{c}{b} = 100 \frac{c}{a} \text{ ou plus simplement } \frac{c}{a}$$

Si nous avions voulu exprimer les résultats comme on le fait d'habitude, au moyen du *pourcentage de feuilles cloquées,* nous aurions d'abord compté le nombre total de feuilles. S'il y a en moyenne x feuilles par bouquets, le nombre total de feuilles sera xa et le pourcentage de feuilles cloquées sera avec nos conventions $\frac{100\ c.}{xa}$.

Il est à la fois plus logique et plus rigoureux d'évaluer l'intensité de la maladie par le rapport $\frac{c}{a}$, plutôt que par le chiffre $\frac{100}{x} \frac{c}{a}$.

En effet, le nombre total de feuilles ne peut pas être connu avec précision du fait de la présence de très jeunes feuilles. De plus, le nombre de feuilles par bouquet, x, ne reste pas constant et va augmenter rapidement par suite de la croissance de l'arbre. Par contre, le rapport $\frac{c}{a}$ ne variera pratiquement pas.

En effet, il est d'observation courante que passé un certain stade, les jeunes feuilles qui apparaissent — même sur des arbres non traités — sont toutes saines, ou du moins en très forte proportion. Pour cette raison, les mêmes arbres qui présentent à un temps donné 80 % de feuilles cloquées peuvent n'en accusuer que 40 %, par exemple, au bout de quelques jours (et avant bien entendu qu'intervienne la chute des organes malades).

Nous avons donc opté pour le rapport $\frac{c}{a}$ afin de chiffrer l'intensité de la maladie.

Les 2 et 3 mai, jours pendant lesquels furent effectuées nos notations, on pouvait évaluer à 5 le chiffre moyen de feuilles par bouquet.

Nous avons donc dans ce cas $\frac{100}{x} = 20$. C'est par ce chiffre qu'il faudra multiplier la note affectée à chaque fongicide si l'on désire tout de même connaître le pourcentage de feuilles cloquées au moment des comptages.

On voit également que dans ces conditions le chiffre 5,00 correspond à la totalité des feuilles cloquées, et 0 à l'absence de maladie.

De même, au-dessus de 1,00 (20 % de cloque au moment de la notation), l'efficacité ne peut plus être considérée comme satisfaisante.

Cependant, le système de notation envisagé présente plusieurs inconvénients qu'il est bien difficile d'éliminer :

— Les notations doivent être conduites rapidement : à moins de disposer d'un personnel extrêmement nombreux, les comptages ne peuvent porter que sur quelques branches prises dans un petit nombre d'arbres. Un choix s'impose donc qui est nécessairement subjectif.

— L'irrégularité dans l'apparition de la maladie vient encore compliquer ce choix. Cette irrégularité peut aussi bien provenir de la réalisation des traitements fongicides que de la répartition du parasite dans le verger lui-même ou d'autres facteurs encore.

— Le système de notation ne permet pas de tenir compte de l'étendue de la surface cloquée sur chaque feuille. Sur les parcelles témoins, la plupart des organes atteints sont complètement déformés, tandis que dans les parcelles ayant reçu un bon produit fongicide, les quelques feuilles atteintes ne le sont que sur une portion du limbe beaucoup plus réduite. Mille feuilles cloquées de cette manière ne causeront pas à l'arbre le même préjudice que mille feuilles que la maladie a changées en amas tuméfiés et informes.

— Enfin, une interprétation statistique n'est pas réalisable.

RÉSULTATS OBTENUS

L'intensité de la maladie mesurée comme il vient d'être indiqué se présentait ainsi pour chaque parcelle :

1° - Blocs ayant reçu les traitements 1 et 2 :

	Virelade	Latresne
BB	0,26	0
ZC	0,30	0,23
BO	1,90	1,60
CuP	1,06	1,77
Témoin ...	2,53	3,08

2° - Blocs n'ayant reçu que le traitement 2 :

	Virelade	Latresne
BB	0,83	0
ZC	0,72	1,46
BO	2,30	2,11
CuP	2,99	2,92
Témoin ...	4,51	3,70

3° - Blocs n'ayant reçu que le traitement 1 :

	Virelade	Latresne
BB	0,97	0,08
ZC	1,06	0,42
BO	1,84	0,96
CuP	1,94	2,21
Témoin	—	2,83

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS ET CONCLUSION

L'intensité exceptionnelle de la maladie mérite tout d'abord d'être soulignée. Peut-être peut-on l'expliquer par la longue période froide et humide qui a suivi le débourrement très précoce. Les bourgeons se seraient alors maintenus pendant longtemps à un stade sensible.

Malgré quelques résultats un peu discordants, dont nous avons essayé d'expliquer plus haut les causes, on peut classer les produits dans l'ordre d'efficacité décroissante ci-dessous :

1. - Bouillie bordelaise;
2. - Zirame + cuivre (ZC)
3. - Zinèbe + sulfate de cuivre (BO);
4. - Zinèbe + oxychlorure de cuivre (CuP).

Le produit à base de zirame-cuivre (ZC) s'est montré dans l'ensemble équivalent ou peu inférieur à la bouillie bordelaise, mais son efficacité peut être considérée comme satisfaisante.

Les deux derniers produits n'ont, par contre, assuré qu'une protection médiocre.

Ces résultats ne sont pas surprenants puisque nous connaissons déjà la supériorité du zirame sur le zinèbe dans la lutte contre la cloque.

Dans des circonstances aussi favorables à la maladie, on notera que, sur les variétés sensibles faisant l'objet de nos essais, les meilleurs résultats ont été obtenus, quel que soit le produit employé, avec deux traitements effectués l'un à la chute des feuilles, l'autre au prédébourrement.

RÉFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

(1) C. Grosclaude. — Lutte contre la cloque du pêcher. *Phytiatrie-Phytopharmacie*, 6, 165-169, 1957.

Station de Pathologie Végétale du Sud-Ouest (I.N.R.A.), Pont-de-la-Maye (Gironde).

Note reçue le 15 mai 1958.